

面向21世纪课程教材
Textbook Series for 21st Century

全国高等医药院校教材 • 供基础、预防、临床、口腔医学类专业用

医学微生物学

第五版

主编 陆德源



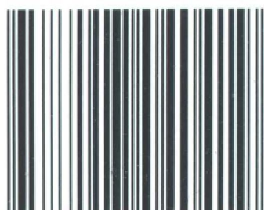
人民卫生出版社



面向21世纪课程教材

责任编辑 赵永昌 · 封面设计 赵京津

ISBN 7-117-04041-6



定 价：28.50元

面向21世纪课程教材

全国高等医药院校教材

供基础、预防、临床、口腔医学类专业用

医学微生物学

第 五 版

主编 陆德源

编者（以姓氏笔画为序）

刘晶星（上海第二医科大学）
闻玉梅（复旦大学医学院）
张卓然（大连医科大学）
贾文祥（华西医科大学）
陆德源（上海第二医科大学）
郭辉玉（中山医科大学）
陈锡英（天津医科大学）
戚中田（第二军医大学）
林特夫（蚌埠医学院）

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目（CIP）数据

医学微生物学/陆德源主编.－5版.－北京:人民卫生出版社,2001

ISBN 7-117-04041-6

Ⅰ.医… Ⅱ.陆… Ⅲ.医药学:微生物学 Ⅳ.R37

中国版本图书馆CIP数据核字(2001)第04417号

医学微生物学

第五版

主　　编:陆德源
出版发行:人民卫生出版社(中继线 67616688)
地　　址:(100078)北京市丰台区方庄芳群园3区3号楼
网　　址:http://www.pmph.com
E-mail:pmph@pmph.com
印　　刷:北京人卫印刷厂
经　　销:新华书店
开　　本:850×1168　1/16　印张:22.5
字　　数:482千字
版　　次:1979年6月第1版　2001年9月第5版第28次印刷
印　　数:998 933—1 038 932
标准书号:ISBN 7-117-04041-6/R·4042
定　　价:28.50元

全国高等医药院校五年制临床医学专业

第五轮教材修订说明

为适应我国高等医学教育改革和发展的需要，经卫生部临床医学专业教材评审委员会审议，卫生部教材办公室决定从1998年开始进行临床医学专业教材第五轮修订。在总结第四轮教材编写质量、使用情况的基础上，提出第五轮修订要面向21世纪，遵循培养目标，适用于本科五年制教学需要；突出教材三基(基础理论、基本知识和基本技能)、五性(思想性、科学性、先进性、启发性和适用性)的特点，注重教材的整体优化及编写的标准化、规范化。同时决定第五轮教材的修订分两批进行，第二批修订是由全国高等医药教材建设研究会和卫生部教材办公室共同组织的。全套教材共50种，第五轮修订40种，新增10种，并有26种是五、七年制共用教材。随着学科发展的需要，教材名称以及必修课与选修课的科目也有所调整。

五年制五轮教材目录

必 修 课 教 材

△1.《医用高等数学》第三版　主编 张选群
△2.《医学物理学》第五版　主编 胡新珉
△3.《基础化学》第五版　主编 魏祖期　副主编 祁嘉义
△4.《有机化学》第五版　主编 吕以仙　副主编 陆　阳
△5.《医学生物学》第五版　主编 左　伋
△6.《系统解剖学》第五版　主编 柏树令
7.《局部解剖学》第五版　主编 彭裕文
8.《组织学与胚胎学》第五版　主编 邹仲之
△9.《生物化学》第五版　主编 周爱儒　副主编 查锡良
10.《生理学》第五版　主编 姚　泰　副主编 乔健天
11.《医学微生物学》第五版　主编 陆德源
△12.《人体寄生虫学》第五版　主编 詹希美
△13.《医学免疫学》第三版　主编 陈慰峰
14.《病理学》第五版　主编 杨光华
15.《病理生理学》第五版　主编 金惠铭
16.《药理学》第五版　主编 金有豫
△17.《医学心理学》第三版　主编 姜乾金
△18.《法医学》第三版　主编 王保捷
19.《诊断学》第五版　主编 陈文彬　副主编 王友赤
20.《医学影像学》第四版　主编 吴恩惠
21.《内科学》第五版　主编 叶任高　副主编 陆再英
22.《外科学》第五版　主编 吴在德　副主编 郑　树
23.《妇产科学》第五版　主编 乐　杰
24.《儿科学》第五版　主编 王慕逖
25.《神经病学》第四版　主编 王维治　副主编 罗祖明
26.《精神病学》第四版　主编 郝　伟
27.《传染病学》第五版　主编 彭文伟
28.《眼科学》第五版　主编 惠延年

29.《耳鼻咽喉科学》第五版 主编 田勇泉
副主编 孙爱华

△30.《口腔科学》第五版 主编 张志愿

△31.《皮肤性病学》第五版 主编 张学军

△32.《核医学》第五版 主编 李少林
副主编 张永学

33.《流行病学》第五版 主编 王建华

34.《卫生学》第五版 主编 仲来福
副主编 刘移民

35.《预防医学》第三版 主编 叶葶葶

△36.《中医学》第五版 主编 郑守曾

△37.《计算机应用基础》第二版 主编 邹赛德
副主编 杨长兴

△38.《体育》第二版 主编 裴海泓

选修课教材

△39.《细胞生物学》 主编 凌诒萍

△40.《医学分子生物学》 主编 冯作化

△41.《医学遗传学》 主编 陈 竺

42.《临床药理学》第二版 主编 徐叔云

43.《医学统计学》第三版 主编 马斌荣

△44.《医学伦理学》 主编 丘祥兴

45.《临床流行病学》 主编 王家良

△46.《康复医学》第二版 主编 南登崑

△47.《医学文献检索》 主编 方 平

△48.《卫生法》 主编 赵同刚

△49.《医学导论》 主编 文历阳

△50.《全科医学概论》 主编 杨秉辉

注：画△者为五、七年制共用教材

全国高等医药院校临床医学专业
第四届教材评审委员会

主任委员 裘法祖

副主任委员 杨光华

委 员

（以姓氏笔画为序）

方 圻（特邀） 卢永德 乐 杰 许积德
朱元珏 朱学骏 乔健天 吴恩惠 陈文彬
陆美芳 武忠弼（特邀） 郑 树 周 申
周东海 金有豫 金惠铭 金魁和 南 潮
钟世镇 谈一飞 彭文伟 董永绥

第五版前言

1998年11月，卫生部在杭州市召开了全国高等医药院校临床医学专业第五轮规划教材修订工作会议。会议再次强调了五年制本科教育的培养目标是从事临床医疗工作的通科医师；规划教材一定要体现三基（基础理论、基本知识、基本技能）、三特（特定对象、特定要求、特定限制）和五性（思想性、科学性、启发性、先进性、适用性）。同时，这次会议巧逢千年之交，会议要求教材修订工作要努力适应21世纪社会进步和卫生事业发展的需要。

根据杭州会议精神，以及兄弟院校使用《医学微生物学》规划教材第四版后的意见和我们的实践体会，我们编写小组对该版教材的内容、编排等方面进行了逐章逐节的讨论和修订。在教材内容上作了进一步的精选：大力删减与培养目标关联不大的微生物学专科性资料；补充近年来发展较成熟的新成就，尤其是充实与感染病、免疫病等发病和免疫机制，指导诊断和防治这类疾病的有关“三基”内容。在章节编排上也有部分的调整：例如将“放线菌属与诺卡菌属”章移至“棒状杆菌属”和“分枝杆菌属”两章之前，使之更符合它们间的生物学位置；“轮状病毒、肠道腺病毒、杯状病毒和星状病毒”都能引起腹泻，组成“急性胃肠炎病毒”新章；近年来对“朊粒”的本质及其危害性认识较深，但其生物学地位尚未确定，故将此独立章暂置于书末。为便于查阅，本版新增索引栏，共收录了主要与医学微生物学有关的条目503条。建议医学微生物学课程的教学时数为70～90学时。

本版教材修订工作之能顺利完成，获得了国内方方面面同道们的大力支持。谢念铭、袁曾麟、王济中、俞树荣、庄辉、李德荣等专家无私提供了珍贵的图片；学术秘书刘晶星教授为本版教材的组织、编修等花了很大精力；肖家祁副主任技师、时晓东老师和彭琦老师为本教材的制图付出了辛勤劳动。在此，一并予以真诚的感谢。

限于我们的学术水平和编写能力，本版教材中定有错误和欠妥之处，盼请同道们继续多多批评指正，谢谢。

陆德源

2000年5月1日

目　　录

第二篇　真　菌　学

第三篇　病　毒　学

绪　论

第一节　微　生　物

微生物（microorganism）是存在于自然界的一大群体形微小、结构简单、肉眼直接看不见，必须藉助光学显微镜或电子显微镜放大数百倍、数千倍，甚至数万倍才能观察到的微小生物。

微生物的种类与分布　微生物的种类繁多，在数十万种以上。按其大小、结构、组成等，可分为三大类。

1．非细胞型微生物　是最小的一类微生物。无典型的细胞结构，无产生能量的酶系统，只能在活细胞内生长增殖。核酸类型为DNA或RNA，两者不同时存在。病毒属之。

2．原核细胞型微生物　这类微生物的原始核呈环状裸DNA团块结构，无核膜、核仁。细胞器很不完善，只有核糖体。DNA和RNA同时存在。这类微生物众多，有细菌、支原体、衣原体、立克次体、螺旋体和放线菌。后五类的结构和组成与细菌接近，故从分类学观点，将它们列入广义的细菌范畴。

3．真核细胞型微生物　细胞核分化程度高，有核膜和核仁，细胞器完整。真菌属此类。

微生物在自然界的分布极为广泛。江河、湖泊、海洋、土壤、矿层、空气等都有数量不等、种类不一的微生物存在。其中以土壤中的微生物最多，例如1g肥沃土壤可有几亿到几十亿个。在人类、动物和植物的体表，以及与外界相通的人类和动物的呼吸道、消化道等腔道中，亦有大量的微生物存在。

微生物与人类的关系　绝大多数微生物对人类和动、植物是有益的，而且有些是必需的。自然界中N、C、S等元素的循环要靠有关的微生物的代谢活动来进行。例如土壤中的微生物能将死亡动、植物的有机氮化物转化为无机氮化物，以供植物生长的需要，而植物又为人类和动物所食用。此外，空气中的大量游离氮，也只有依靠固氮菌等作用后才能被植物吸收。因此，没有微生物，植物就不能进行代谢，人类和动物也将难以生存。

在农业方面，也可以应用微生物制造菌肥、植物生长激素等；也可利用微生物感染昆虫这一自然现象来杀死害虫。例如苏云金杆菌能在一些农作物害虫的肠腔中生长繁殖并分泌毒素，导致寄生昆虫的死亡。这样，开辟了以菌造肥、以菌催长、以菌防病、以

菌治病等农业增产新途径，为人类创造物质财富。

在工业方面，微生物应用于食品、皮革、纺织、石油、化工、冶金等行业日趋广泛。例如采用盐酸水解法生产1吨味精需要小麦30吨，现改用微生物发酵法只需薯粉3吨，既降低生产成本，又大大节约细粮。又如在炼油工业中，利用多种能以石油为原料的微生物进行石油脱蜡，可以提高石油的质量和产量。

在医药工业方面，有许多抗生素是微生物的代谢产物，也可选用微生物来制造一些维生素、辅酶、ATP等药物。

此外，在污水处理方面，利用微生物降解有机磷、氰化物等亦有良好效果。

近年来，随着分子生物学的发展，微生物在基因工程技术中的作用更显辉煌，不仅提供了必不可少的多种工具酶和载体系统，更可人为地定向创建有益的工程菌新品种，能在无污染自然环境中制造出多样、大量的人类必需品。

正常情况下，寄生在人类和动物口、鼻、咽部和消化道中的微生物是无害的，且有的尚能拮抗病原微生物。再则，定植在肠道中的大肠埃希菌等还能向宿主提供必需的硫胺素、核黄素、烟酸、维生素 B_{12}、维生素K和多种氨基酸等营养物质。又牛、羊等反刍动物的胃，因有分解纤维素的微生物定植，才能利用草饲料作为营养物质。

有少数微生物能引起人类和动物、植物的病害，这些具有致病性的微生物称为致病微生物或病原微生物。它们分别引起人类的伤寒、痢疾、结核、破伤风、麻疹、脊髓灰质炎、肝炎、艾滋病（AIDS）等；禽、兽的鸡霍乱、鸭瘟、牛炭疽、猪气喘等；以及农作物的水稻白叶枯病、小麦赤霉病、大豆病毒病等。有些微生物，在正常情况下不致病，只是在特定情况下导致疾病，这类微生物称为条件致病微生物。例如一般大肠埃希菌在肠道不致病，在泌尿道或腹腔中就引起感染。此外，有些微生物的破坏性还表现在使工业产品、农副产品和生活用品的腐蚀和霉烂等。

第二节　微 生 物 学

微生物学（microbiology）是生命科学的一个重要分支，是研究微生物的类型、分布、形态、结构、代谢、生长繁殖、遗传、进化，以及与人类、动物、植物等相互关系的一门科学。微生物学工作者的任务是将对人类有益的微生物用于生产实际，对人类有害的微生物予以改造、控制和消灭；使微生物学朝向人类需要的方向发展。

微生物学随着研究范围的日益广泛和深入，又形成了许多分支。着重研究微生物学基础的有普通微生物学、微生物分类学、微生物生理学、微生物生态学、微生物遗传学、分子微生物学等。按研究对象分为细菌学、病毒学、真菌学等。在应用领域中，分为农业微生物学、工业微生物学、医学微生物学、诊断微生物学、兽医微生物学、食品微生物学、海洋微生物学、石油微生物学、土壤微生物学等。新近又有一门由细胞生物学与微生物学融合的细胞微生物学（cellular microbiology）的新分支学科形成。该学科是用病原体来研究细胞生物学问题，这一分支的发展将大大有利于病原微生物致病机制的研究。这些分支学科的相互配合和促进，使整个微生物学不断地全面地向纵深发

展。

微生物学的发展过程大致可分三个时期。

微生物学经验时期 古代人类虽未观察到具体的微生物，但早已将微生物知识用于工农业生产和疾病防治之中。公元前两千多年前的夏禹时代，就有仪狄作酒的记载。北魏（386～534）贾思勰《齐民要术》一书中，详细记载了制醋方法。那时也已知道豆类的发酵过程，从而制成了酱。民间常用的盐腌、糖渍、烟熏、风干等保存食物的方法，实际上都是防止食物因微生物生长繁殖而腐烂变质的有效措施。

11世纪时，北宋末年刘真人就有肺痨由虫引起之说。意大利Fracastoro（1483～1553）认为传染病的传播有直接、间接和通过空气等数种途径。奥地利Plenciz（1705～1786）主张传染病的病因是活的物体，每种传染病由独特的活物体所引起。18世纪清乾隆年间，我国师道南在《天愚集》鼠死行篇中写道：“东死鼠，西死鼠，人见死鼠如见虎，鼠死不几日，人死如圻堵，昼死人莫问数，日色惨淡愁云护，三人行未十步多，忽死两人横截路……”。生动地描述了当时鼠疫猖獗流行的可怕凄惨情景，同时也正确地指出了鼠疫的流行环节。

在预防医学方面，我国自古以来就有将水煮沸后饮用的习惯。明李时珍《本草纲目》中指出，对病人的衣服蒸过再穿就不会感染到疾病，表明已有消毒的记载。

古代人民已认识到天花是一种烈性传染病，一旦与患者接触，几乎都将受染，且死

定了基础。

微生物学的另一奠基人是德国学者郭霍（Robert Koch，1843～1910）。他创用固体培养基，使有可能将细菌从环境或病人排泄物等标本中分离成为纯培养，利于对各种细菌的特性分别研究。他还创用了染色方法和实验动物感染，为发现多种传染病的病原菌提供实验手段。在19世纪的最后20年中，许多传染病的病原菌如炭疽芽胞杆菌、伤寒沙门菌、结核分枝杆菌、霍乱弧菌、白喉棒状杆菌、葡萄球菌、破伤风梭菌、脑膜炎奈瑟菌、鼠疫耶氏菌、肉毒梭菌、痢疾志贺菌等，由郭霍和在他带动下的一大批学者相继发现并分离培养成功。

郭霍根据对炭疽芽胞杆菌的研究，提出了著名的郭霍法则（Koch's postulates，1884）。认为：①特殊的病原菌应在同一种疾病中查见，在健康人中不存在；②该特殊病原菌能被分离培养得纯种；③该纯培养物接种至易感动物，能产生同样病症；④自人

澳大利亚学者 Burnet 以生物学和分子遗传学的发展为基础，在艾利希侧链学说和 Jerne 等天然抗体选择学说，以及人工耐受诱导成功的启发下，于 1958 年提出了关于抗体生成的克隆选择学说。该学说的基本观点是将机体的免疫现象建立在生物学的基础上，它不仅阐明了抗体产生机制，同时也可对抗原的识别、免疫记忆形成、自身耐受建立和自身免疫发生等重要免疫生物学现象作出解答。这样，免疫学跨越了感染免疫的范畴，逐渐形成生物医学（biomedicine）中的一门新学科。

3. 化学疗剂和抗生素的发明　首先合成化学疗剂的是艾利希。他在 1910 年合成治疗梅毒的砷凡纳明（编号 606），后又合成新砷凡纳明（编号 914），开创了微生物性疾病的化学治疗时代。1935 年 Domagk 发现百浪多息（protosil）可以治疗致病性球菌感染后，一系列磺胺药物相继合成，广泛应用于感染性疾病的治疗中。

1929 年 Fleming 发现青霉菌产生的青霉素能抑制金黄色葡萄球菌的生长。直到 1940 年，Florey 等将青霉菌的培养液予以提纯，才获得可供临床使用的青霉素纯品。青霉素的发现，鼓舞了微生物学家们寻找、发掘抗生素的热潮，于是链霉素、氯霉素、金霉素、土霉素、红霉素等等相继发现。使许多由细菌引起的感染和传染病得到控制和治愈，为人类健康作出了巨大贡献。

现代微生物学时期　近 30 年来，随着化学、物理学、生物化学、遗传学、细胞生物学、免疫学和分子生物学等学科的进展，电子显微镜技术、细胞培养、组织化学、标记技术、核酸杂交、色谱技术和电子计算机等新技术的建立和改进，微生物学得到极为迅速的发展。

1. 新病原微生物的发现　自 1973 年以来，新发现的病原微生物已有 30 多种。其中主要的有军团菌，幽门螺杆菌，霍乱弧菌 0139 血清群，大肠埃希菌 0157:H7 血清型，肺炎衣原体，伯氏疏螺旋体，人类免疫缺陷病毒（HIV），人疱疹病毒 6、7、8 型，丙、丁、戊、庚型肝炎病毒，汉坦病毒，轮状病毒等。

1967~1971 年间，美国植物学家 Diener 等从马铃薯纺锤形块茎病中发现一种不具有蛋白质组分的 RNA 致病因子，称为类病毒（viroid）。后来在研究类病毒时发现另一种引起苜蓿等植物病害的拟病毒（virusoid）。1983 年有关国际会议将这些微生物统称为亚病毒（subvirus）。

1982 年，美国科学家 Prusiner 从感染羊瘙痒病（scrapie）的鼠脑分离出一种称为朊粒（prion）的传染性蛋白因子。该因子只含蛋白质，无核酸组分。引起海绵状脑病，是一种慢性进行性致死性中枢神经系统疾病。朊粒所致疾病，动物中除羊瘙痒病外，有牛海绵状脑病（俗称疯牛病），貂传染性脑炎等；人类中有库鲁（kuru）病、克-雅病（Creutzfeldt-Jakob disease，CJD）、格斯综合征（Gerstmann's syndrome，GSS）、致死性家族失眠症（fatal familial insomnia，FFI）等。prion 曾译为朊病毒，但有学者认为其生物学性状与寻常病毒差异太大，不宜列入病毒范畴，因而，其确切生物学位置待定。

2. 致病机制　近年来，分子生物学技术的介入，对病原微生物致病机制的认识可深入到分子水平和基因水平。迄今一些主要病原菌的外毒素、内毒素、侵袭性蛋白、粘

附素等，病毒的结构蛋白和非结构蛋白等组成和功能，以及相应的编码基因和调控基因有所了解，它们与宿主间的相互关系亦有进一步的明确。这些都有助于为诊断和防治微生物感染性疾病设计更有效措施提供新的科学依据。

最近，与人类基因组计划相呼应，病原微生物的基因组计划已提到议事日程。病毒基因组的结构和功能分析早已处于领先地位，截至 1998 年 9 月，已有 572 株病毒进行了全基因测序，其中与人类有关的病毒占 76 株，已完成原核微生物基因组测序工作的有 20 种，其中属医学微生物的有流感嗜血杆菌、幽门螺杆菌、结核分枝杆菌、大肠埃希菌、肺炎支原体、生殖器支原体、苍白密螺旋体和伯氏疏螺旋体。病原微生物基因组序列测定的重大意义，除更好地了解其致病机制和与宿主的相互关系外，尚能发现更灵敏、特异的致病分子标记作为诊断、分型等的依据；为临床筛选有效药物和开发疫苗提供资料；为对人类相关基因功能的认识和探讨人类遗传性疾病机制提供参考等。

3. 诊断技术　细菌的鉴定和分类，过去以表型方法为主，现则侧重于基因型方法来分析待检菌的遗传学特征。后法包括 DNA 的 G + C mol% 测定、DNA × DNA 杂交、DNA × rRNA 杂交、16SrRNA 寡核苷酸序列分析、氨基酸序列分析、质粒分析、基因转移和重组、基因探针、多聚酶链反应（PCR）、限制性片段长度多态性（RFLP）分析等。这些分子生物学技术在分类、新种鉴定和流行病学中尤为重要，例如现已普遍为学术界接受的将生物分成真核生物、真细菌和古细菌（Archaeobacteria）三个域（domain），就是 Woese 等用 16SrRNA 寡核苷酸序列分析技术，获得了大量原核生物和真核生物的序列谱后创立的。

临床微生物学检验中，快速诊断方法发展较快，免疫荧光、放射核素和酶联（ELISA）三大标记技术中，以 ELISA 快速测定微生物抗原技术较为普遍，放射核素标记因有辐射危害，已逐渐为地高辛、光敏生物素等非放射性物质标记所替代。

细菌检验中的微量化和自动化，也是微生物学诊断中的发展方向。经过多年的研究和不断改进，常规的临床细菌学诊断已可由系列的试剂盒商品成套供应，来替代各检验部门自行配制试剂、手工操作的缓慢和繁琐状态。

4. 防治措施　针对灭活全菌体疫苗接种后普遍有一定的不良副反应和减毒活疫苗株不易获得；而对一些病原微生物与免疫防御有关的组分，可以通过分子生物学技术分离或克隆入无害载体。近年来肺炎链球菌荚膜多糖疫苗、脑膜炎奈瑟菌荚膜多糖疫苗、百日咳血凝素组分疫苗、铜绿假单胞菌外膜蛋白疫苗、伤寒沙门菌 Ty2la 疫苗、乙型肝炎基因工程疫苗等相继问世。1993 年 Ulmer 等开创的核酸疫苗被誉为疫苗学的新纪元，具有广阔的发展前景。

多种抗生素的发现对细菌性感染的防治起着极大作用，但不少病原菌的单元和多重耐药株随着出现，给治疗带来很大困难。经过科研人员的努力，不断对老药修饰改造和新抗菌药物的研制，情况有所改善，但仍不能逆转耐药性这一根本问题。抗病毒和真菌药物，也很少有突破性进展。近年来，应用生物工程产生大批量干扰素、白介素-2 等细胞因子，在试治某些病毒性疾病中，取得一定效果。在由肠道菌群失调造成的消化功能紊乱患者，微生态制剂可以一试。

第三节　医学微生物学

医学微生物学（medical microbiology）是微生物学的一个分支，是一门基础医学课程。主要研究与医学有关病原微生物的生物学特性、致病和免疫机制，以及特异性诊断、防治措施，以控制和消灭感染性疾病和与之有关的免疫损伤等疾病，达到保障和提高人类健康水平的目的。

根据医学微生物学的系统性和教学上的循序渐进原则，本课程分为细菌学、真菌学和病毒学三篇。每篇内容包括总论和各论两个部分，分别叙述原核微生物、真核微生物和非细胞型微生物的形态结构、生长繁殖、遗传变异等生物学特性、病原微生物和宿主机体的相互关系，以及微生物学检查法和防治原则。支原体、衣原体、立克次体、螺旋体和放线菌，按分类原则虽列入细菌篇中，但为便于教学，它们仍分别在专章中各自单独阐述。

辛亥革命后，我国仅有少数学者从事微生物学的研究，并取得一定成就。例如发现旱獭也可为鼠疫耶氏菌的储存宿主；首先应用鸡胚培养立克次体等。新中国成立后，较快地消灭了天花；鼠疫、白喉、脊髓灰质炎、新生儿破伤风等得到了控制；我国学者汤飞凡等首先成功地分离出沙眼衣原体。此外，1959 年国内分离出麻疹病毒，成功地制成减毒活疫苗，很快地控制了麻疹的流行；1972～1973 年分离出流行性出血性角膜结膜炎的病原体，并证明是肠道病毒 70 型。近 30 年来，甲、乙、丙、戊、庚型肝炎病毒和 HIV 的诊断方法已建立并广泛用于临床；甲型肝炎病毒已分离培养建株成功，并制成疫苗用于预防；流行性出血热的病因学和流行病学研究已进入世界前列；EB 病毒和鼻咽癌间发现有密切联系，并建立了早期诊断方法。在病原菌方面，军团菌、幽门螺杆菌、伯氏疏螺旋体等陆续分离成功；ELISA 等标记技术已广泛应用于实际；核酸杂交、PCR 技术也已在有关领域中开展。至于我国特有的中医中药对防治某些微生物感染的研究长期持续不断，并发现多种中草药能抑制或杀死某些病原微生物。

在医学微生物学领域，国内外虽都取得不小成绩，但距离控制和消灭传染病的目标尚存在颇大差距。目前，由病原微生物引起的多种传染病仍严重威胁人类的健康。据世界卫生组织（WHO）报道，近年全球平均每年有 1700 多万人死于传染病。新病原体的不断出现，造成新的（新现，emerging）传染病；原流行病原体因变异、耐药等重新流行，导致再现（reemerging）传染病为病死的主要原因。最近几年发生的来源于畜禽病原体的感染人类事件，值得人们警惕。例如 1996 年日本爆发的大肠埃希菌 0157:H7 食物中毒，发病 1 万余人，死亡 11 例；1997 年我国香港有 18 人患 H5N1 型禽流感病毒感染，死亡 4 人；1998 年英国有数十万头牛患牛海绵状脑病（疯牛病，BSE），死亡十万余头，至少有 10 个青年死于不典型的 CJD，据调查他（她）们都有进食牛肉史。

鉴于迄今仍有一些感染性疾病的病原体还未发现；某些病原体的致病和免疫机制有待阐明；不少疾病尚缺乏有效防治措施，因此，医学微生物学今后要继续加强对病原微生物的致病因子及其致病机制和免疫机制的研究，研制安全、有效的疫苗；运用分子生

物学和免疫学等新手段，创建特异、灵敏、快速、简便的诊断方法；深人研究微生物的耐药机制，探讨防止和逆转耐药性措施，并积极开发抗细菌、真菌和病毒的新型药物等。只有这样多方面的综合研究，才能使医学微生物学和有关学科在共同努力下，达到控制和消灭危害人类健康的感染性疾病这一宏伟目标。

（陆德源　刘晶星）

第一篇　细　菌　学

第1章　细菌的形态与结构

细菌（bacterium）是属原核生物界（prokaryotae）的一种单细胞微生物，有广义和狭义两种范畴。广义上泛指各类原核细胞型微生物，包括细菌、放线菌、支原体、衣原体、立克次体和螺旋体。狭义上则专指其中数量最大、种类最多、具有典型代表性的细菌，是本章讨论的对象。它们形体微小，结构简单，具有细胞壁和原始核质，无核仁和核膜，除核糖体外无其他细胞器。

了解细菌的形态和结构对研究细菌的生理活动、致病性和免疫性，以及鉴别细菌、诊断疾病和防治细菌性感染等均有重要的理论和实际意义。

第一节　细菌的大小与形态

观察细菌最常用的仪器是光学显微镜，其大小可以用测微尺在显微镜下进行测量，一般以微米（μm）为单位。不同种类的细菌大小不一，同一种细菌也因菌龄和环境因素的影响而有差异。

细菌按其外形，主要有球菌、杆菌和螺形菌三大类（图1-1）。

球菌　多数球菌（coccus）直径在1μm左右，外观呈圆球形或近似球形。由于繁殖时细菌分裂平面不同和分裂后菌体之间相互粘附程度不一，可形成不同的排列方式，这对一些球菌的鉴别颇有意义。

1. 双球菌（diplococcus）　在一个平面上分裂，分裂后两个菌体成对排列，如脑膜炎奈瑟菌、肺炎链球菌。

2. 链球菌（streptococcus）　在一个平面上分裂，分裂后多个菌体粘连成链状，如乙型溶血性链球菌。

3. 葡萄球菌（staphylococcus）　在多个不规则的平面上分裂，分裂后菌体无规则地粘连在一起似葡萄状，如金黄色葡萄球菌。

4. 四联球菌（tetrad）　在两个互相垂直的平面上分裂，分裂后四个菌体粘附在一起呈正方形，如四联加夫基菌。

5. 八叠球菌（sarcina）　在三个互相垂直的平面上分裂，分裂后八个菌体粘附成

包裹状立方体，如藤黄八叠球菌。

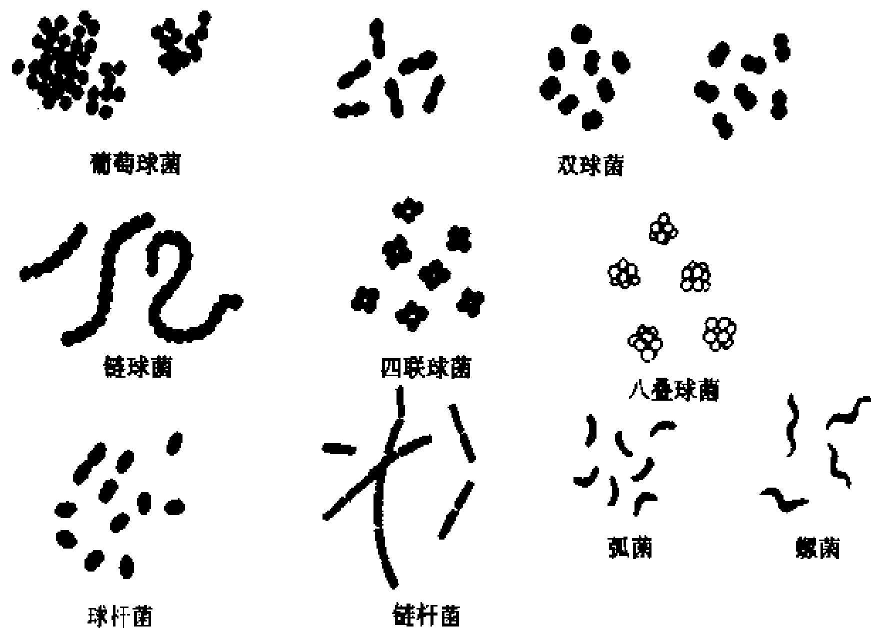


图1-1 细菌的基本形态

各类球菌在标本或培养物中除上述的典型排列方式外，还可有分散的单个菌体存在。

杆菌 不同杆菌（bacillus）的大小、长短、粗细很不一致。大的杆菌如炭疽芽胞杆菌长3～10μm，中等的如大肠埃希菌长2～3μm，小的如布鲁菌长仅0.6～1.5μm。

杆菌形态多数呈直杆状，也有的菌体稍弯；多数呈分散存在，也有的呈链状排列，称为链杆菌（streptobacillus）；菌体两端大多呈钝圆形，少数两端平齐（如炭疽芽胞杆菌）或两端尖细（如梭杆菌）。有的杆菌末端膨大成棒状，称为棒状杆菌（corynebacterium）；有的菌体短小，近似椭圆形，称为球杆菌（coccobacillus）；有的常呈分枝生长趋势，称为分枝杆菌（mycobacterium）；有的末端常呈分叉状，称为双歧杆菌（bifidobacterium）。

螺形菌 螺形菌（spiral bacterium）菌体弯曲，有的菌体长2～3μm，只有一个弯曲，呈弧形或逗点状称为弧菌（vibrio），如霍乱弧菌；有的菌体长3～6μm，有数个弯曲称为螺菌（spirillum），如鼠咬热螺菌；也有的菌体细长弯曲呈弧形或螺旋形，称为螺杆菌（helicobacterium），如幽门螺杆菌。

细菌的形态受温度、pH、培养基成分和培养时间等因素影响很大。一般是细菌在适宜的生长条件下培养8～18h时形态比较典型，在不利环境或菌龄老时常出现梨形、气球状和丝状等不规则的多形性（polymorphism），称为衰退型（involution form）。因此，观察细菌的大小和形态，应选择其适宜生长条件下的对数期为宜。

第二节 细菌的结构

细菌虽小，仍具有一定的细胞结构（图1-2）和功能。细胞壁、细胞膜、细胞质和

核质等各种细菌都有，是细菌的基本结构；荚膜、鞭毛、菌毛、芽胞仅某些细菌具有，为其特殊结构。

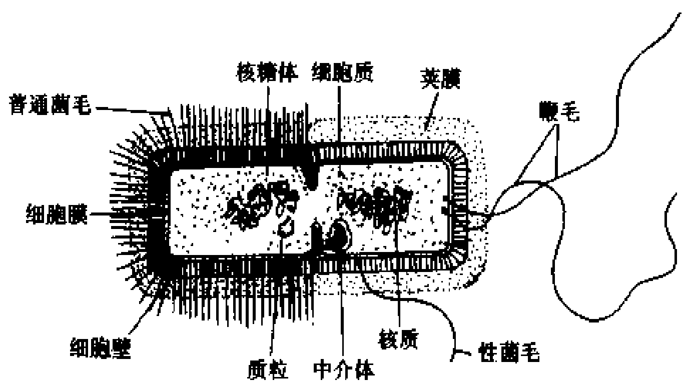


图 1-2　细菌细胞结构模式图

一、细菌的基本结构

细胞壁　细胞壁（cell wall）位于菌细胞的最外层，包绕在细胞膜的周围，是一种膜状结构，组成较复杂，并随不同细菌而异。用革兰染色法可将细菌分为两大类，即革兰阳性菌和革兰阴性菌。两类细菌细胞壁的共有组分为肽聚糖，但各自有其特殊组分。

1. 肽聚糖（peptidoglycan）　肽聚糖是一类复杂的多聚体，是细菌细胞壁中的主要组分，为原核细胞所特有，又称为粘肽（mucopeptide）、糖肽（glycopeptide）或胞壁质（murein）。革兰阳性菌的肽聚糖由聚糖骨架、四肽侧链和五肽交联桥三部分组成（图 1-3），革兰阴性菌的肽聚糖仅由聚糖骨架和四肽侧链两部分组成（图 1-4）。

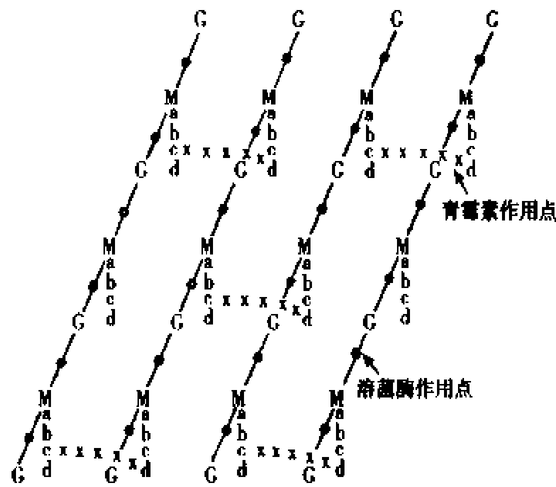


图 1-3　金黄色葡萄球菌细胞壁的肽聚糖结构

M：N-乙酰胞壁酸　G：N-乙酰葡糖胺

O：β-1,4 糖苷键　a：L-丙氨酸

b：D-谷氨酸　c：L-赖氨酸

d：D-丙氨酸　x：甘氨酸

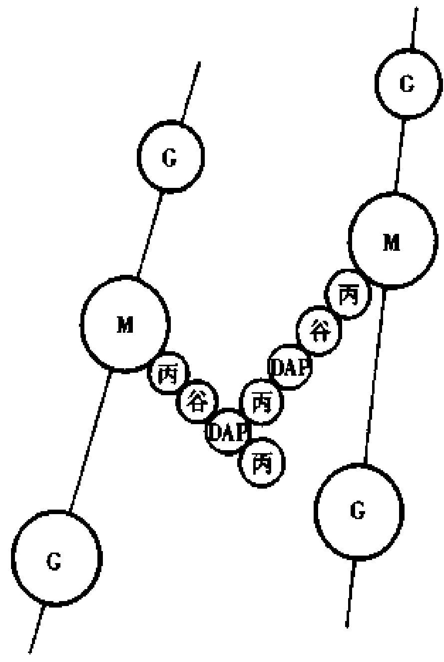


图 1-4　大肠埃希菌细胞壁的肽聚糖结构

聚糖骨架由N-乙酰葡糖胺（N-acetyl glucosamine）和N-乙酰胞壁酸（N-acetylmuramic acid）交替间隔排列，经β-1,4糖苷键联结而成。各种细菌细胞壁的聚糖骨架均相同。

四肽侧链的组成和联结方式随菌不同而异。如葡萄球菌（革兰阳性菌）细胞壁的四肽侧链的氨基酸依次为L-丙氨酸、D-谷氨酸、L-赖氨酸和D-丙氨酸；第三位的L-赖氨酸通过由五个甘氨酸组成的交联桥连接到相邻聚糖骨架四肽侧链末端的D-丙氨酸上，从而构成机械强度十分坚韧的三维立体结构。在大肠埃希菌（革兰阴性菌）的四肽侧链中，第三位氨基酸是二氨基庚二酸（diaminopimelic acid，DAP），并由DAP与相邻四肽侧链末端的D-丙氨酸直接连接，没有五肽交联桥，因而只形成单层平面网络的二维结构。其他细菌的四肽侧链中第三位氨基酸变化最大，大多数革兰阴性菌为DAP，而革兰阳性菌可以是DAP、L-赖氨酸或其他L-氨基酸。

2．革兰阳性菌细胞壁特殊组分　革兰阳性菌的细胞壁较厚（20～80nm），除含有15～50层肽聚糖结构外，大多数尚含有大量的磷壁酸（teichoic acid），少数是磷壁醛酸（teichuroic acid），约占细胞壁干重的50%（图1-5）。

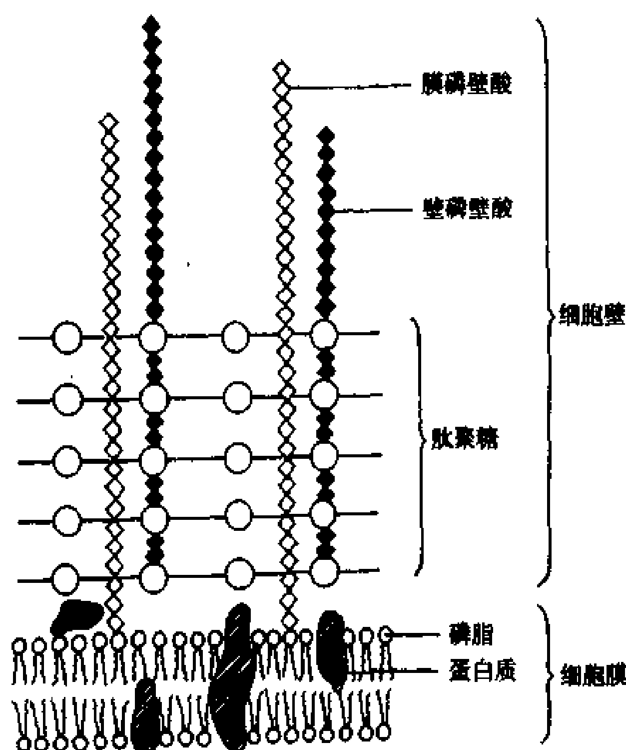


图1-5　革兰阳性菌细胞壁结构模式图

磷壁酸是由核糖醇（ribitol）或甘油残基经磷酸二酯键互相连接而成的多聚物，其结构中少数基团被氨基酸或糖所取代，多个磷壁酸分子组成长链穿插于肽聚糖层中。按其结合部位不同，分为壁磷壁酸（wall teichoic acid）和膜磷壁酸（membrane teichoic acid）两种。前者的一端通过磷脂与肽聚糖上的胞壁酸共价结合，另端伸出细胞壁游离于外。膜磷壁酸，或称脂磷壁酸（lipoteichoic acid，LTA），一端与细胞膜外层上的糖脂共价结合，另端穿越肽聚糖层伸出细胞壁表面呈游离状态。磷壁醛酸与磷壁酸相似，仅

其结构中以糖醛酸代替磷酸。

此外，某些革兰阳性菌细胞壁表面尚有一些特殊的表面蛋白质，如金黄色葡萄球菌的A蛋白，A群链球菌的M蛋白等。

3. 革兰阴性菌细胞壁特殊组分 革兰阴性菌细胞壁较薄（10～15nm），但结构较复杂。除含有1～2层的肽聚糖结构外，尚有其特殊组分外膜（outer membrane），约占细胞壁干重的80%（图1-6）。

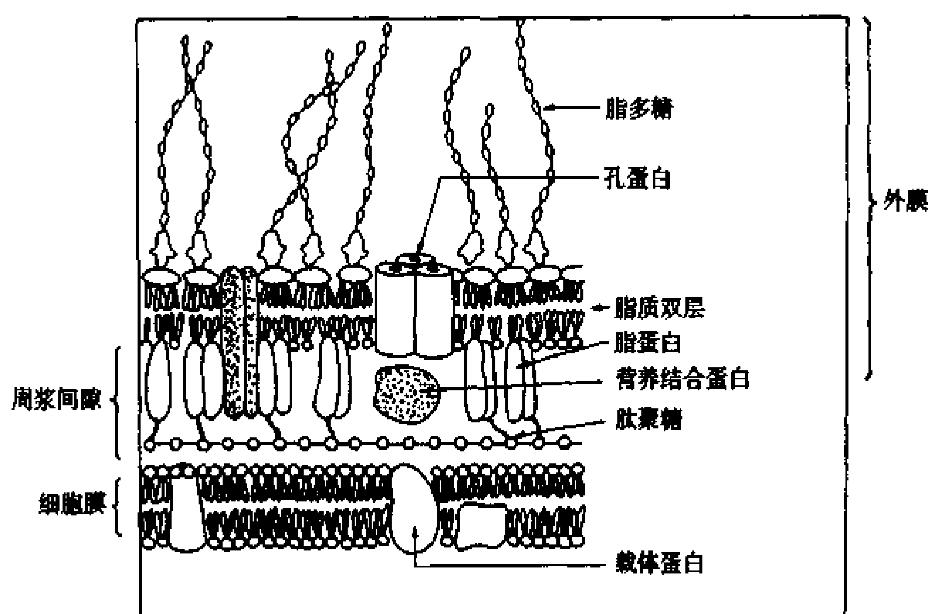


图1-6 革兰阴性菌细胞壁结构模式图

外膜由脂蛋白、脂质双层和脂多糖三部分组成。脂蛋白位于肽聚糖层和脂质双层之间，其蛋白质部分与肽聚糖侧链的二氨基庚二酸相连，其脂质成分与脂质双层非共价结合，使外膜和肽聚糖层构成一个整体。脂质双层的结构类似细胞膜，双层内镶嵌着多种蛋白质称为外膜蛋白（outer membrane protein，OMP），其中有的为孔蛋白（porin），如大肠埃希菌的OmpF、OmpC，允许水溶性分子（分子量≤600）通过；有的为诱导性或去阻遏蛋白质，参与特殊物质的扩散过程；有的为噬菌体、性菌毛或细菌素的受体。由脂质双层向细胞外伸出的是脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）。LPS由脂质A、核心多糖和特异多糖三部分组成，即革兰阴性菌的内毒素（endotoxin）。

（1）脂质A（lipid A）：为一种糖磷脂，由β1′，6-糖苷键相联的D-氨基葡糖双糖组成的基本骨架，双糖骨架的游离羟基和氨基可携带多种长链脂肪酸和磷酸基团。不同种属细菌的脂质A骨架基本一致，其主要差别是脂肪酸的种类和磷酸基团的取代不尽相同，其中β-羟基豆蔻酸是肠道菌所共有的。脂质A是内毒素的毒性和生物学活性的主要组分，无种属特异性，故不同细菌产生的内毒素的毒性作用均相似。

（2）核心多糖（core polysaccharide）：位于脂质A的外层，由已糖（葡萄糖、半乳糖等）、庚糖、2-酮基-3-脱氧辛酸（2-keto-3-deoxyoctanoic acid，KDO）、磷酸乙醇胺等组成。经KDO与脂质A共价联结。核心多糖有属特异性，同一属细菌的核心多糖相同。

（3）特异多糖（specific polysaccharide）：是脂多糖的最外层，由数个至数十个低聚糖（3～5 个单糖）重复单位所构成的多糖链。特异多糖即革兰阴性菌的菌体抗原（O 抗原），具有种特异性，因其多糖中单糖的种类、位置、排列和空间构型各不相同所致。特异多糖的缺失，细菌从光滑（smooth，S）型变为粗糙（rough，R）型。

另外，少数革兰阴性菌（脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、流感嗜血杆菌）的 LPS 结构不典型，其外膜糖脂含有短链分枝状聚糖组分（与粗糙型肠道菌的 LPS 相似），称为脂寡糖（lipooligosaccharide，LOS）。它与哺乳动物细胞膜的鞘糖脂成分非常相似，从而使这些细菌逃避宿主免疫细胞的识别。LOS 作为重要的毒力因子受到关注。

在革兰阴性菌的细胞膜和外膜的脂质双层之间有一空隙，约占细胞体积的 20%～40%，称为周浆间隙（periplasmic space）。该间隙含有多种蛋白酶、核酸酶、解毒酶及特殊结合蛋白，在细菌获得营养、解除有害物质毒性等方面有重要作用。

β-内酰胺抗生素是指其结构中含有 β-内酰胺环的一类抗生素，包括青霉素类和头孢菌素类，由于其抑制细胞壁肽聚糖的合成而达到杀菌作用。细菌产生的 β-内酰胺酶（β-lactamase，BLA）可以特异性地打开药物分子结构中的 β-内酰胺环，使其完全失去活性。一般是革兰阳性菌的 BLA 为胞外酶，革兰阴性菌的 BLA 位于周浆间隙内，BLA 的产生可以由细菌染色体编码，也可以由质粒编码。20 世纪 90 年代以来，应用 Bush-Jocoby-Medeiros（简称 Bush 法）分类法，即根据该酶来源、分子生物学特征、底物谱和抑制物敏感性等，将细菌的 BLA 分为四大类。近年来，在克雷伯菌、大肠埃希菌、肠杆菌等革兰阴性菌中又出现了新的 BLA 突变体，扩大了原来的底物谱，可以水解青霉素类和一、二、三代头孢菌素和单环类抗生素（氨曲南），称其为超广谱 β-内酰胺酶（extended spectrum β-lactamase，ESBL）。β-内酰胺酶介导的耐药性是细菌耐药机制研究的重要内容，也是抗生素不断改造的理论基础。

革兰阳性和阴性菌细胞壁结构显著不同（表 1-1），导致这两类细菌在染色性、抗原性、致病性及对药物的敏感性等方面的很大差异。

表 1-1　革兰阳性菌与阴性菌细胞壁结构比较

细胞壁	革兰阳性菌	革兰阴性菌
强度	较坚韧	较疏松
厚度	20～80nm	10～15nm
肽聚糖层数	可多达 50 层	1～2 层
肽聚糖含量	占细胞壁干重 50%～80%	占细胞壁干重 5%～20%
糖类含量	约 45%	15%～20%
脂类含量	1%～4%	11%～22%
磷壁酸	+	—
外膜	—	+

4．细胞壁的功能　细菌细胞壁坚韧而富弹性，其主要功能维持菌体固有的形态，并保护细菌抵抗低渗环境。细菌细胞质内有高浓度的无机盐和大分子营养物质，其渗透压高达 506625～2533125Pa（5～25 个大气压）。由于细胞壁的保护作用，使细菌能承受内部巨大的渗透压而不会破裂，并能在相对低渗的环境中生存。细胞壁上有许多小孔，参与菌体内外的物质交换。菌体表面带有多种抗原表位，可以诱发机体的免疫应答。

革兰阳性菌的磷壁酸是重要表面抗原，与血清型分类有关。它带有较多的负电荷，能与 Mg^{2+} 等双价离子结合，有助于维持菌体内离子的平衡。磷壁酸还可起到稳定和加强细胞壁的作用。乙型溶血性链球菌表面的 M 蛋白与 LTA 结合在细菌表面形成微纤维（microfibrils），后者介导菌体与宿主细胞的粘附，是其致病因素之一。

革兰阴性菌的外膜是一种有效的屏障结构，使细菌不易受到机体的体液杀菌物质、肠道的胆盐及消化酶等的作用；还可阻止某些抗生素的进入，成为细菌耐药的机制之一。LPS（内毒素）是革兰阴性菌重要的致病物质，使机体发热，白细胞增多，直至休克死亡。另一方面 LPS 也可增强机体非特异性抵抗力，并有抗肿瘤等有益作用。

外膜是革兰阴性菌的重要结构，其屏障功能改变介导的耐药性包括外膜通透性降低和主动外排（泵出）两种机制。革兰阴性菌的外膜是抗生素与细菌接触的第一道防线，外膜屏障作用是由孔蛋白所决定。大肠埃希菌有两种主要的孔蛋白 OmpF 和 OmpC，正常情况下的孔径分别为 1.16nm 和 1.08nm，为亲水性抗菌药物的通道。抗菌药物分子越大，所带负电荷越多，疏水性越强则不易通过细菌外膜。细菌发生突变可以造成孔蛋白的丢失或降低其表达，均会影响药物从细胞外向细胞内的运输，使抗生素不能达到作用靶位而发挥抗菌效能。铜绿假单胞菌外膜对抗生素的通透性比其他革兰阴性菌差，是该菌对多种抗生素天然耐药的原因之一。

革兰阳性和阴性菌对四环素耐药主要由于细胞膜存在能量依赖性泵出系统，使菌体内药物量减少，此种泵出系统由 Tet 膜蛋白介导。这种抗生素的泵出系统也见于氯霉素、红霉素和喹诺酮类药物耐药菌。

5．细菌细胞壁缺陷型（细菌 L 型）　细菌细胞壁的肽聚糖结构受到理化或生物因素的直接破坏或合成被抑制后，这种细胞壁受损的细菌一般在普通环境中不能耐受菌体内的高渗透压而将会胀裂死亡。但在高渗环境下，它们仍可存活。革兰阳性菌细胞壁缺失后，原生质仅被一层细胞膜包住，称为原生质体（protoplast）；革兰阴性菌肽聚糖层受损后尚有外膜保护，称为原生质球（spheroplast）。这种细胞壁受损的细菌能够生长和分裂者称为细菌细胞壁缺陷型或 L 型（bacterial L form），因 1935 年 Klieneberger 首先在 Lister 研究院发现而得名。

细菌 L 型在体内或体外、人工诱导或自然情况下均可形成，诱发因素很多，如溶菌酶（lysozyme）和溶葡萄球菌素（lysostaphin）、青霉素、胆汁、抗体、补体等。

细菌 L 型的形态因缺失细胞壁而呈高度多形性，大小不一，有球形、杆状和丝状等（图 1-7）。着色不匀，无论其原为革兰阳性或阴性菌，形成 L 型大多染成革兰阴性。细菌 L 型难以培养，其营养要求基本与原菌相似，但需在高渗低琼脂含血清的培养基中生长，即必须补充 3%～5%NaCl、10%～20%蔗糖或 7%聚乙烯吡咯烷酮（PVP）等稳定剂，以提高培养基的渗透压。同时还需加 10%～20%人或马血清。制备固体培养基时，可在液体培养基中加入 0.8%～1.0%的少量琼脂，使 L 型在生长时可以琼脂为支架。细菌 L 型生长繁殖较原菌缓慢，一般培养 2～7d 后在软琼脂平板上形成中间较厚、四周较薄的荷包蛋样细小菌落，也有的长成颗粒状或丝状菌落（图 1-8）。L 型在液体培养基中生长后呈较疏松的絮状颗粒，沉于管底，培养液则澄清。去除诱发因素后，有些 L 型可回复为原菌，有些则不能回复，其决定因素为 L 型是否含有残存的肽聚糖作为自身再合成的引物。

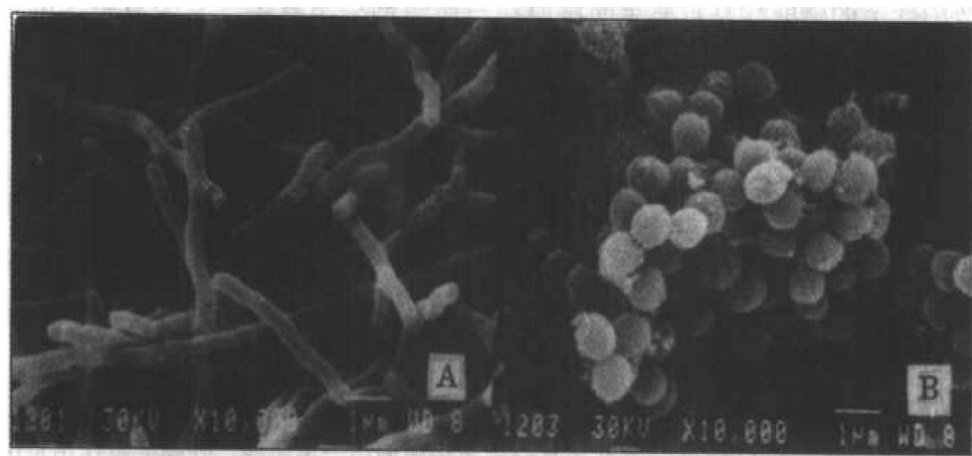


图 1-7　葡萄球菌 L 型

A. 临床标本分出的丝状 L 型菌落（扫描电镜×10 000）

B. 丝状 L 型菌落回复后（扫描电镜×10 000）

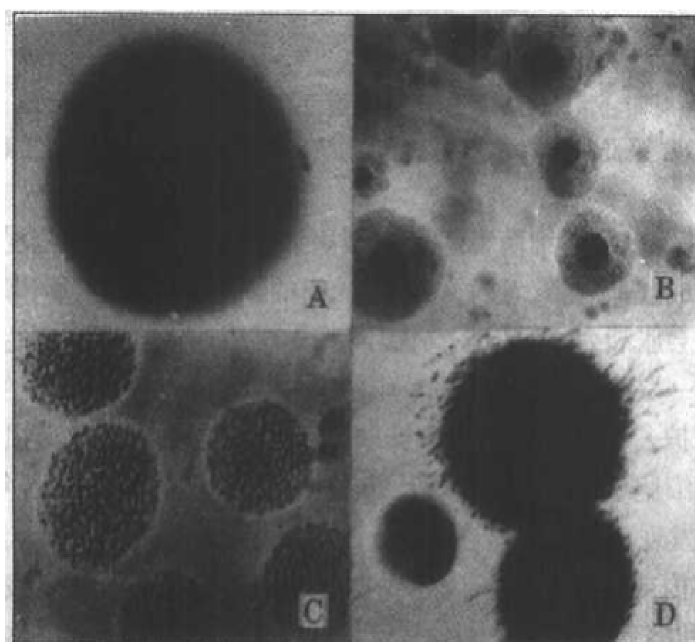


图 1-8　细菌 L 型菌落类型

A. 原细菌型菌落　B. 荷包蛋样 L 型菌落　C. 颗粒型 L 型菌落　D. 丝状型 L 型菌落

（×40）

某些 L 型仍有一定的致病力，通常引起慢性感染，如尿路感染、骨髓炎、心内膜炎等，并常在使用作用于细胞壁的抗菌药物（β-内酰胺类抗生素等）治疗过程中发生。临床上遇有症状明显而标本常规细菌培养阴性者，应考虑细菌 L 型感染的可能性，宜作 L 型的专门分离培养，并更换抗菌药物。

溶菌酶和青霉素是细菌 L 型最常用的人工诱导剂。溶菌酶和溶葡萄球菌素作用相同，能裂解肽聚糖中 N-乙酰葡糖胺和 N-乙酰胞壁酸之间的 β-1,4 糖苷键，破坏聚糖骨架，引起细菌裂解。青霉素能与细菌竞争合成肽聚糖过程中所需的转肽酶，抑制四肽侧链上 D-丙氨酸与五肽桥之间的联结，使细菌不能合成完整的肽聚糖，在一般渗透压环境中，可导致细菌死亡。在高渗情况下，这些细胞壁缺陷

的L型仍可活存。革兰阳性菌细胞壁缺陷形成的原生质体，由于菌体内渗透压很高，可达2026500～2533125Pa（20～25个大气压），故在普通培养基中很容易胀裂死亡，必须保存在高渗环境中。革兰阴性菌细胞壁中肽聚糖含量较少，菌体内的渗透压［506625～607950Pa（5～6个大气压）］亦比革兰阳性菌低，细胞壁缺陷形成的原生质球在低渗环境中仍有一定的抵抗力。

细胞膜　细胞膜（cell membrane）或称胞质膜（cytoplasmic membrane），位于细胞壁内侧，紧包着细胞质。厚约7.5nm，柔韧致密，富有弹性，占细胞干重的10%～30%。细菌细胞膜的结构与真核细胞者基本相同，由磷脂和多种蛋白质组成，但不含胆固醇。

细菌细胞膜是细菌赖以生存的重要结构之一，其功能也与真核细胞者类似，主要有物质转运、生物合成、分泌和呼吸等作用。

细菌细胞膜可形成一种特有的结构，称为中介体（mesosome），是部分细胞膜内陷、折叠、卷曲形成的囊状物，多见于革兰阳性细菌（图1-9）。中介体常位于菌体侧面（侧中介体）或靠近中部（横隔中介体），可有一个或多个。中介体一端连在细胞膜上，另一端与核质相连，细胞分裂时中介体亦一分为二，各携一套核质进入子代细胞，有类似真核细胞纺锤丝的作用。中介体的形成，有效地扩大了细胞膜面积，相应地增加了酶的含量和能量的产生，其功能类似于真核细胞的线粒体，故亦称为拟线粒体（chondroid）。

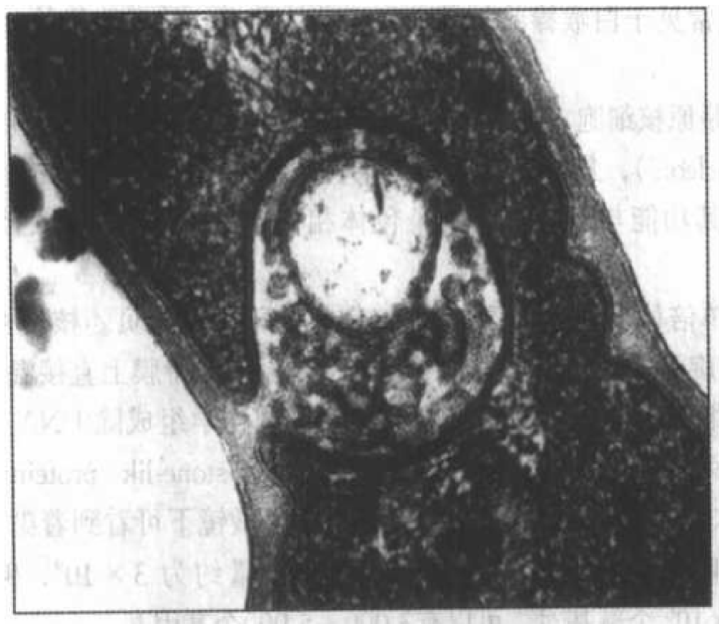


图1-9　白喉棒状杆菌的中介体
（透射电镜×130 000　谢念铭提供）

细胞质　细胞膜包裹的溶胶状物质为细胞质（cytoplasm）或称原生质（protoplasm），由水、蛋白质、脂类、核酸及少量糖和无机盐组成，其中含有许多重要结构。

1．核糖体（ribosome）　核糖体是细菌合成蛋白质的场所，游离存在于细胞质中，每个细菌体内可达数万个。细菌核糖体沉降系数为70S，由50S和30S两个亚基组成，以大肠埃希菌为例，其化学组成66%是RNA（包括23S、16S和5S rRNA），34%为蛋

白质。核糖体常与正在转录的 mRNA 相连呈“串珠”状，称多聚核糖体（polysome），使转录和转译偶联在一起。在生长活跃的细菌体内，几乎所有的核糖体都以多聚核糖体的形式存在。

真核生物的核糖体与细菌者不同，有些抗生素如链霉素或红霉素能分别与细菌核糖体的 30S 亚基或 50S 亚基结合，干扰其蛋白质合成，从而杀死细菌；但这些药物对人类的核糖体则无作用。

2. 质粒（plasmid）　质粒是染色体外的遗传物质，存在于细胞质中。为闭合环状的双链 DNA，带有遗传信息，控制细菌某些特定的遗传性状。质粒能独立自行复制，随细菌分裂转移到子代细胞中。质粒不是细菌生长所必不可少的，失去质粒的细菌仍能正常存活。质粒除决定该菌自身的某些性状外，还可通过接合或转导作用等将有关性状传递给另一细菌。质粒编码的细菌性状有菌毛、细菌素、毒素和耐药性的产生等。

3. 胞质颗粒　细菌细胞质中含有多种颗粒，大多为贮藏的营养物质，包括糖原、淀粉等多糖、脂类、磷酸盐等。胞质颗粒又称为内含物（inclusion），不是细菌的恒定结构，不同菌有不同的胞质颗粒，同一菌在不同环境或生长期亦可不同。当营养充足时，胞质颗粒较多；养料和能源短缺时，动用贮备，颗粒减少甚至消失。胞质颗粒中有一种主要成分是 RNA 和多偏磷酸盐（polymetaphosphate）的颗粒，其嗜碱性强，用亚甲蓝染色时着色较深呈紫色，称为异染颗粒（metachromatic granule）或纡回体（volutin）。异染颗粒常见于白喉棒状杆菌，位于菌体两端，故又称极体（polar body），有助于鉴定。

核质　细菌是原核细胞，不具成形的核。细菌的遗传物质称为核质（nuclear material）或拟核（nucleoid），集中于细胞质的某一区域，多在菌体中央，无核膜、核仁和有丝分裂器。因其功能与真核细胞的染色体相似，故习惯上亦称之为细菌的染色体（chromosome）。

细菌核质为单倍体，细胞分裂时可有完全相同的多拷贝。核质由单一密闭环状 DNA 分子反复回旋卷曲盘绕组成松散网状结构。电镜支持膜上直接温和裂菌观察，显示有类似于真核细胞染色质的串珠样结构。核质的化学组成除 DNA 外，还有少量的 RNA（以 RNA 多聚酶形式）和组蛋白样的蛋白质（histone-like proteins）。细菌经 RNA 酶或酸将 RNA 水解，再用 Feulgen 法染色，光学显微镜下可看到着染的核质，形态多呈球形、棒状或哑铃状。大肠埃希菌的核质分子量约为 3×10^9，伸展后长度可达 1.1mm，含 4.7×10^6 个碱基对，可以有3 000～5 000个基因。

细菌的染色体（核质）为一个共价闭合环状双链 DNA 分子，由两股方向相反的 DNA 多聚链呈右手双螺旋结构。细菌染色体 DNA 的超螺旋依赖于一类拓扑异构酶（topoisomerase），其中所有细菌共有的一种酶为旋转酶（gyrase）。氟哌酸、环丙沙星等喹诺酮类药物就是通过与旋转酶结合而抑制细菌繁殖的。

细菌的染色体与真核细胞者相比，有两个显著的不同：一是前者的 DNA 量要小得多，其序列的组织性也就简单得多；二是除了 RNA 基因通常是多拷贝，以便装备大量的核糖体满足细菌的迅速生长繁殖外，细菌绝大多数的蛋白质基因保持单拷贝形式，很少有重复序列。

二、细菌的特殊结构

荚膜 某些细菌在其细胞壁外包绕一层粘液性物质，为疏水性多糖或蛋白质的多聚体，用理化方法去除后并不影响菌细胞的生命活动。凡粘液性物质牢固地与细胞壁结合，厚度≥0.2μm，边界明显者称为荚膜（capsule）或大荚膜（macrocapsule）（图1-10）。厚度<0.2μm者称为微荚膜（microcapsule），伤寒沙门菌的Vi抗原、大肠埃希菌的K抗原等属之。若粘液性物质疏松地附着于菌细胞表面，边界不明显且易被洗脱者称为粘液层（slime layer）。介于荚膜和粘液层之间的结构称为糖萼（glycocalyx），由多糖或糖蛋白组成，是从菌体伸出的疏松纤维网状结构。

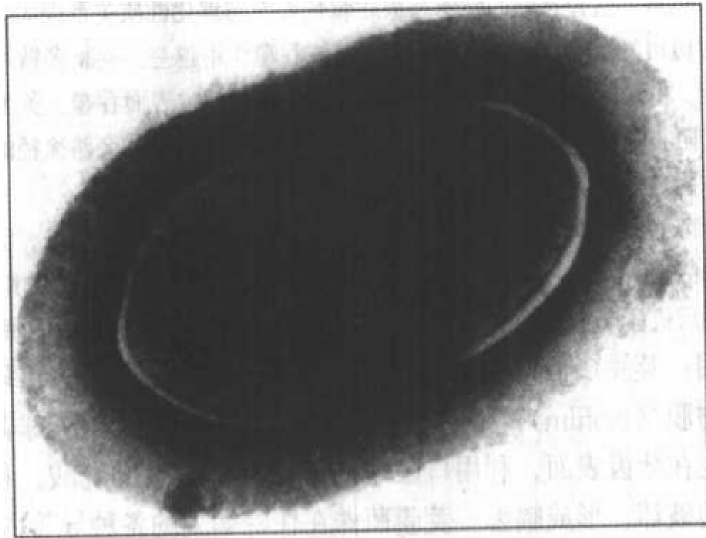


图1-10 肺炎链球菌荚膜
（透射电镜 ×42 000）

1. 荚膜的化学组成 大多数细菌的荚膜是多糖，炭疽芽胞杆菌、鼠疫耶氏菌等少数菌的荚膜为多肽。荚膜多糖为高度水合分子，含水量在95%以上，与菌细胞表面的磷脂或脂质A共价结合。多糖分子组成和构型的多样化使其结构极为复杂，成为血清学分型的基础。例如肺炎链球菌的荚膜多糖物质的抗原至少可分成85个血清型。荚膜与同型抗血清结合发生反应后即逐渐增大，出现荚膜肿胀反应，可藉此将细菌定型。

荚膜的形成需要能量，与环境条件有密切关系。一般在动物体内或含有血清或糖的培养基中容易形成荚膜，在普通培养基上或连续传代则易消失。有荚膜的细菌在固体培养基上形成粘液（M）型或光滑（S）型菌落，失去荚膜后其菌落变为粗糙（R）型。

荚膜对一般碱性染料亲和力低，不易着色，普通染色只能见到菌体周围有未着色的透明圈。如用墨汁作负染色，则荚膜显现更为清楚。用特殊染色法可将荚膜染成与菌体不同的颜色。

分子遗传学研究证明编码荚膜多糖的基因簇（capsule gene cluster）位于细菌染色体上，报道较多的是大肠埃希菌和肺炎链球菌。大肠埃希菌有80多种K抗原，依据其生物学和化学特性不同分为三个群（group），Ⅰ群K抗原又分为$Ⅰ_a$群（不含氨基糖）和$Ⅰ_b$群（含氨基糖）。$Ⅰ_a$群K抗原位于染

色体 his 基因近端靠近 rfb 基因簇处；编码Ⅱ群或Ⅲ群 K 抗原的基因簇位于染色体 serA 位点附近，其中心部位为血清型特异性编码区域。不同菌属间荚膜基因簇的组成有显著的相似性，与大肠埃希菌比较，已克隆的Ⅰ群样（group Ⅰ like）荚膜基因簇有肺炎克雷伯菌、解淀粉欧文菌，Ⅱ群样（group Ⅱ like）荚膜基因簇有流感嗜血杆菌 b 型、B 群脑膜炎奈瑟菌、伤寒沙门菌的 Vi 抗原。

2．荚膜的功能　荚膜和微荚膜具有相同的功能。

（1）抗吞噬作用：荚膜具有抵抗宿主吞噬细胞的作用，因而荚膜是病原菌的重要毒力因子。例如肺炎链球菌，有荚膜株数个菌就可使实验小鼠致死，无荚膜株则高达上亿个菌才能使小鼠死亡。

吞噬现象有两种类型，一为表面吞噬（surface phagocytosis），另一为调理素介导的吞噬（opsonin-mediated phagocytosis）。表面吞噬是吞噬细胞直接摄取细菌等颗粒性异物，被吞菌并不被 IgG 抗体和活化的补体组分 C3b 包被。这种吞噬的强弱与被吞颗粒表面的理化性质关系极大。颗粒表面的疏水性与表面吞噬的强度密切相关，菌体表面越疏水，细菌抗吞噬作用越差。荚膜多糖亲水且带负电荷，故能阻滞表面吞噬活性。由调理素介导的吞噬，其吞噬效率大大超过表面吞噬。荚膜在菌细胞表面的空间占位和屏障作用，阻止补体组分 C3b 的沉积，并遮蔽了细菌激活补体旁路途径的表面结构，从而抵抗补体介导的杀伤作用。

此外，大肠埃希菌 K1 和 B 群脑膜炎奈瑟菌的荚膜多糖含有 NeuNAc 组分，大肠埃希菌 K5 抗原含有脱硫肝素（desulfoheparin）组分，而宿主的组织多糖也有与上述结构相似的组分，故这类荚膜的免疫原性低弱，感染后机体产生抗体量亦少，可能是这些细菌不易被宿主清除的重要原因。

（2）粘附作用：荚膜多糖可使细菌彼此之间粘连，也可粘附于组织细胞或无生命物体表面，形成生物膜（biofilm），是引起感染的重要因素。变异链球菌（*S. mutans*）依靠荚膜将其固定在牙齿表面，利用口腔中的蔗糖产生大量的乳酸，积聚在附着部位，导致牙齿珐琅质的破坏，形成龋齿。荚膜菌株在住院病人的各种导管内粘附定植，是院内感染发生的重要因素。

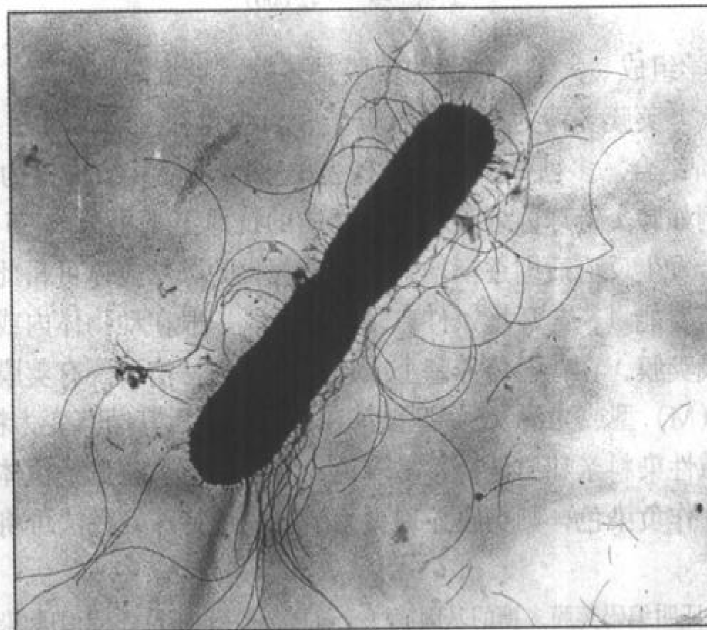


图 1-11　破伤风梭菌的周身鞭毛

（透射电镜×16 000　谢念铭提供）

(3) 抗有害物质的损伤作用：荚膜处于菌细胞的最外层，有保护菌体避免和减少受溶菌酶、补体、抗菌抗体、抗菌药物等有害物质的损伤作用。

鞭毛 许多细菌，包括所有的弧菌和螺菌，约半数的杆菌和个别球菌，在菌体上附有细长并呈波状弯曲的丝状物，少仅1～2根，多者达数百。这些丝状物称为鞭毛（flagellum），是细菌的运动器官。鞭毛长5～20μm，直径12～30nm，需用电子显微镜观察（图1-11），或经特殊染色法使鞭毛增粗后才能在普通光学显微镜下看到（图1-12）。

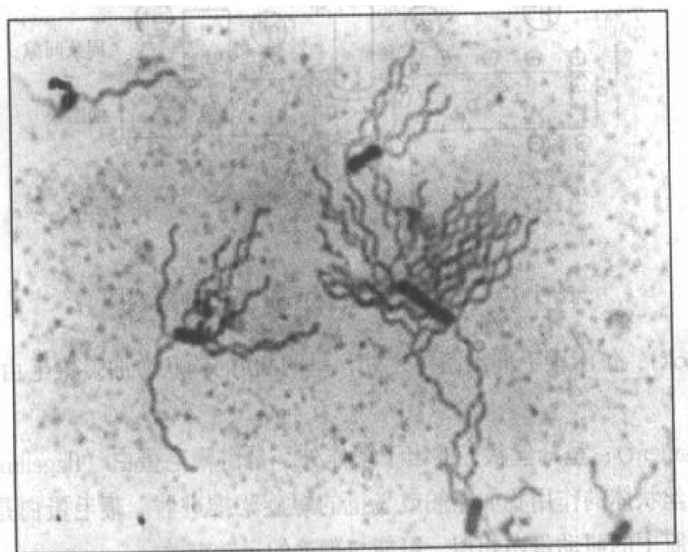


图1-12 伤寒沙门菌的鞭毛
（鞭毛染色 ×1 900）

根据鞭毛的数量和部位，可将鞭毛菌分成四类（图1-13）。①单毛菌（monotrichate）：只有一根鞭毛，位于菌体一端，如霍乱弧菌；②双毛菌（amphitrichate）：菌体两端各有一根鞭毛，如空肠弯曲菌；③丛毛菌（lophotrichate）：菌体一端或两端有一丛鞭毛，如铜绿假单胞菌；④周毛菌（peritrichate）：菌体周身遍布许多鞭毛，如伤寒沙门菌。

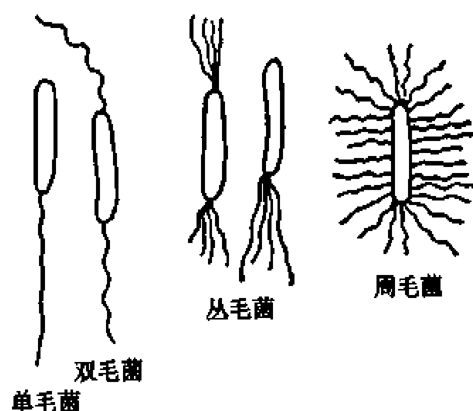


图1-13 细菌鞭毛的类型

1. 鞭毛的结构 鞭毛自细胞膜长出，游离于菌细胞外，由基础小体、钩状体和丝状体三个部分组成（图1-14）。

(1) 基础小体（basal body）：位于鞭毛根部，嵌在细胞壁和细胞膜中。革兰阴性菌鞭毛的基础小体由一根圆柱、两对同心环和输出装置组成。其中，一对是M（membrane）环和S（supramembrane）环，附着在细胞膜上；另一对是P（peptidoglycan）环和L（lipopolysaccharide）环，附着在细胞壁的肽聚糖和外膜的脂多糖上。基础小体的基底部是鞭毛的输出装置（export apparatus），位于细胞膜内面的细胞质内。基底部圆柱体周围的发动器（motor）为鞭毛运动提供能量，近旁的开关（switch）决定鞭毛转动的方向。革兰阳性菌的细胞壁无外膜，其鞭毛只有M、S一对同心环。

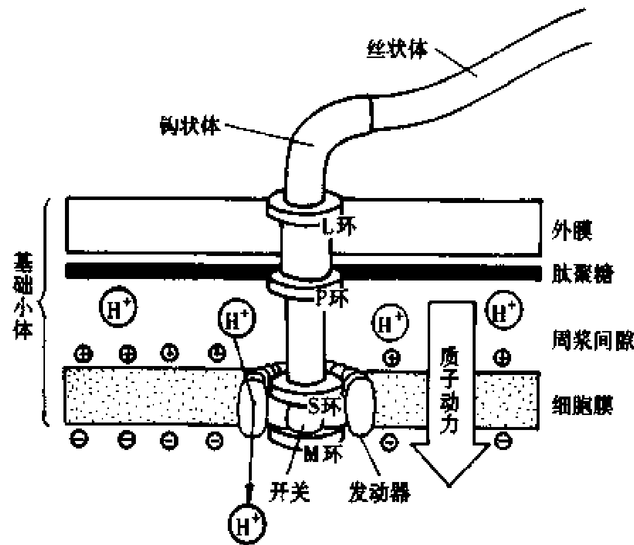


图 1-14 大肠埃希菌鞭毛根部结构模式图

(2) 钩状体（hook）：位于鞭毛伸出菌体之处，呈约90°的钩状弯曲。鞭毛由此转弯向外伸出，成为丝状体。

(3) 丝状体（filament）：呈纤丝状，伸出于菌体外，是由鞭毛蛋白（flagellin）紧密排列并缠绕而成的中空管状结构。丝状体的作用犹如船舶或飞机的螺旋桨推进器。鞭毛蛋白是一种弹力纤维蛋白，其氨基酸组成与骨骼肌中的肌动蛋白相似，可能与鞭毛的运动有关。

鞭毛是从尖端生长，在菌体内形成的鞭毛蛋白分子不断地添加到鞭毛的末端。若用机械方法去除鞭毛，新的鞭毛很快合成，3～6min内恢复动力。各菌种的鞭毛蛋白结构不同，具有高度的抗原性，称为鞭毛（H）抗原。

2. 鞭毛的功能　具有鞭毛的细菌在液体环境中能自由游动，速度迅速，如单鞭毛的霍乱弧菌每秒移动可达55μm，周毛菌移动较慢，每秒25～30μm。细菌的运动有化学趋向性，常向营养物质处前进，而逃离有害物质。

有些细菌的鞭毛与致病性有关。例如霍乱弧菌、空肠弯曲菌等通过活泼的鞭毛运动穿透小肠粘膜表面覆盖的粘液层，使菌体粘附于肠粘膜上皮细胞，产生毒性物质导致病变的发生。

根据鞭毛菌的动力和鞭毛的抗原性，可用以鉴定细菌和进行细菌分类。

细菌是由鞭毛发动器将跨膜质子梯度中贮存的化学能转变为鞭毛转动所需的能量，周浆间隙中的质子（H^+）通过鞭毛发动器流入细胞质内。有少数细菌能利用钠离子梯度供给鞭毛转动的能量。在这个过程中，由跨膜质子梯度或钠离子梯度构成质子动力（proton motive force）。鞭毛发动器能够顺时钟或逆时钟方向转动，从而决定细菌游动的方向。当发动器逆时钟方向转动时，鞭毛的丝状体结合成一束拖在菌体后，推动细菌向前进（run）；若发动器呈顺时钟方向转动，束状丝状体松开，细菌停顿或向相反方向游动（tumble）。平时，细菌以这两种方式交替游动，称为随意移动（random walk）。

细菌的运动具有方向性，受环境因素的影响极大。菌细胞膜上有众多的特异信号受体（signal receptor），能接受不同的理化和生物学刺激而作出相应反应。例如大肠埃希菌细胞膜上的特异性糖结合受体，既能察觉化学趋化信号，也参与该物质的运输。如果遇到吸引性刺激时，细菌就会暂时性抑制发动器的顺时钟方向转动，使菌体向吸引物移动；反之，遇到有害物质时，也会增强发动器的顺时钟方向转动，于是细菌背离有害物运动以保存自己。

菌毛 许多革兰阴性菌和少数革兰阳性菌菌体表面存在着一种比鞭毛更细、更短而直硬的丝状物，与细菌的运动无关，称为菌毛（pilus or fimbriae）。菌毛由结构蛋白亚单位菌毛蛋白（pilin）组成，呈螺旋状排列成圆柱体，新形成的菌毛蛋白分子插入菌毛的基底部。菌毛蛋白具有抗原性，其编码基因位于细菌的染色体或质粒上。菌毛在普通光学显微镜下看不到，必须用电子显微镜观察（图 1-15）。

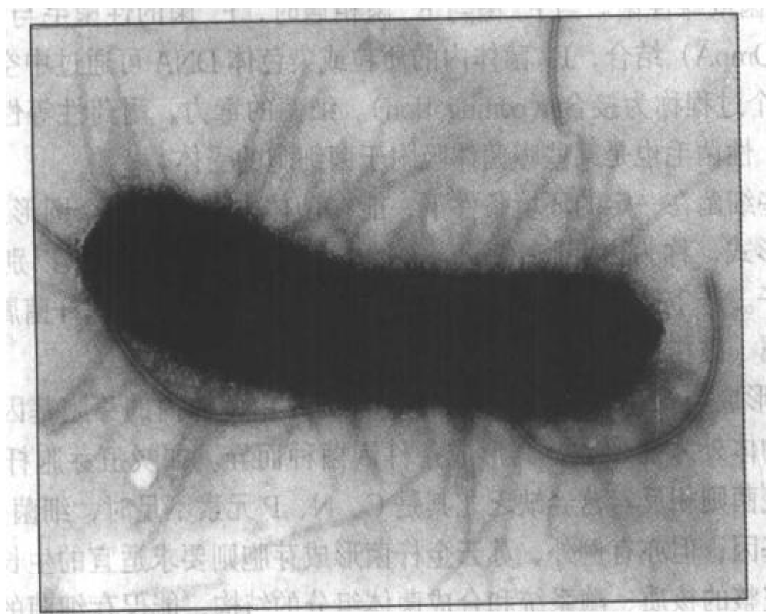


图 1-15 大肠埃希菌的普通菌毛和性菌毛

（透射电镜 ×42 500 谢念铭、袁曾麟提供）

根据功能不同，菌毛可分为普通菌毛和性菌毛两类。

1. 普通菌毛（ordinary pilus） 长 0.2～2μm，直径 3～8nm。遍布菌细胞表面，每菌可达数百根。这类菌毛是细菌的粘附结构，能与宿主细胞表面的特异性受体结合，是细菌感染的第一步。因此，菌毛和细菌的致病性密切相关。菌毛的受体常为糖蛋白或糖脂，与菌毛结合的特异性决定了宿主感染的易感部位。同样，如果红细胞表面具有菌毛受体的相似成分，不同的菌毛就会引起不同类型的红细胞凝集，称之为血凝（hemagglutination，HA），藉此可以鉴定菌毛。例如大肠埃希菌的Ⅰ型菌毛（type Ⅰ或 common pili），粘附于肠道和下尿道粘膜上皮细胞表面；能凝集豚鼠红细胞，可被 D-甘露糖所抑制，称为甘露糖敏感性血凝（MSHA）。致肾盂肾炎大肠埃希菌（pyelonephritic *E. coli* or uropathogenic *E. coli*，UPEC）的 P 菌毛（pyelonephritis-associated pili，P pili）常粘附于肾的集合管和肾盏；能凝集 P 血型阳性红细胞，且不被甘露糖所抑制，称为甘露糖抗性血凝（MRHA），是上行性尿路感染的重要致病菌。肠产毒型大肠埃希菌（enterotoxigenic *E. coli*，ETEC）的定植因子是一种特殊类型的菌毛（CFA/Ⅰ，CFA/Ⅱ），粘附于小肠粘膜细胞，编码定植因子和肠毒素的基因均位于可接合传递质粒上，是该菌重要的毒力因子。霍乱弧菌、肠致病型大肠埃希菌（EPEC）和淋病奈瑟菌的菌毛都属于Ⅳ型菌毛，在所致的肠道或泌尿生殖道感染中起到关键作用。有菌毛菌株的粘附可抵抗肠蠕动或尿液的冲洗作用而有利于定植，一旦丧失菌毛，其致病力亦随之消失。

在革兰阳性球菌中，A群链球菌的菌毛与M蛋白和LTA结合在一起，介导该菌与宿主粘膜上皮细胞的粘附。

2．性菌毛（sex pilus）　仅见于少数革兰阴性菌。数量少，一个菌只有1～4根。比普通菌毛长而粗，中空呈管状。性菌毛由一种称为致育因子（fertility factor，F factor）的质粒编码，故性菌毛又称F菌毛。带有性菌毛的细菌称为F^+菌或雄性菌，无性菌毛者称为F^-菌或雌性菌。当F^+菌与F^-菌相遇时，F^+菌的性菌毛与F^-菌相应的性菌毛受体（如OmpA）结合，F^+菌体内的质粒或染色体DNA可通过中空的性菌毛进入F^-菌体内，这个过程称为接合（conjugation）。细菌的毒力、耐药性等性状可通过此方式传递。此外，性菌毛也是某些噬菌体吸附于菌细胞的受体。

芽胞　某些细菌在一定的环境条件下，能在菌体内部形成一个圆形或卵圆形小体，是细菌的休眠形式，称为内芽胞（endospore），简称芽胞（spore），以别于真菌在菌体外部形成的孢子。产生芽胞的细菌都是革兰阳性菌，重要的有芽胞杆菌属（炭疽芽胞杆菌等）和梭菌属（破伤风梭菌等）。

1．芽胞的形成与发芽　细菌形成芽胞的能力是由菌体内的芽胞基因决定的。芽胞一般只是在动物体外才能形成，其形成条件因菌种而异。如炭疽芽胞杆菌在有氧下形成，而破伤风梭菌则相反。营养缺乏尤其是C、N、P元素不足时，细菌生长繁殖减速、启动芽胞形成基因；但亦有例外，苏云金杆菌形成芽胞则要求适宜的生长条件。

芽胞带有完整的核质、酶系统和合成菌体组分的结构，能保存细菌的全部生命必需物质。芽胞形成后，菌体即成为空壳，有些芽胞可从菌体脱落游离。

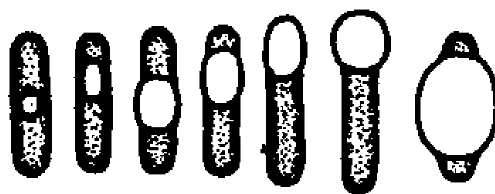


图1-16　细菌芽胞的形态、大小和位置

芽胞折光性强，壁厚，不易着色。染色时需经媒染、加热等处理。芽胞的大小、形状、位置等随菌种而异，有重要的鉴别价值（图1-16）。例如炭疽芽胞杆菌的芽胞为卵圆形、比



图1-17　破伤风梭菌芽胞

（透射电镜　×21 000　谢念铭提供）

菌体小，位于菌体中央；破伤风梭菌芽胞呈圆形，比菌体大，位于顶端，状如鼓槌（图1-17）；肉毒梭菌芽胞亦比菌体大，位于次极端。

芽胞形成在形态学上可分Ⅰ～Ⅶ七个期，全程6～8h。始于对数生长期末，菌细胞膜进行性地内陷性生长，逐渐形成双层膜结构，包被核质成为芽胞的核心。细胞膜又能合成特殊物质，在内膜和外膜间形成芽胞壁和皮质。在外膜外围再形成芽胞壳和芽胞外衣。

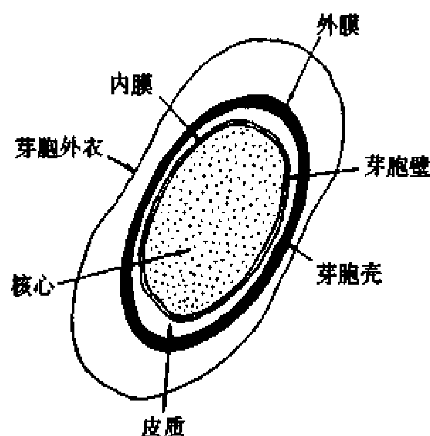


图1-18 细菌芽胞的结构

成熟的芽胞具有多层膜结构（图1-18）。芽胞核心（core）是芽胞的原生质体，含有细菌原有的核质和核糖体、酶类等主要生命基质。核心的外层依次为内膜、芽胞壁、皮质、外膜、芽胞壳和芽胞外衣，将其层层包裹，成为坚实的球体。内膜和外膜由原来的细胞膜形成。芽胞壁（spore wall）含肽聚糖，发芽后成为细菌的细胞壁。皮质（cortex）是芽胞包膜中最厚的一层，由一种特殊的肽聚糖组成。芽胞壳（coat）是一种类似角蛋白的疏水性蛋白质，致密无通透性，能抗化学药物进入，并增强对紫外线照射的抵抗力。有些细菌芽胞还有一层疏松的芽胞外衣（exosporium），含有脂蛋白和糖类。

芽胞形成后，若由于机械力、热、pH改变等刺激作用，破坏其芽胞壳，并供给水分和营养，芽胞可发芽，形成新的菌体。

一个细菌只形成一个芽胞，一个芽胞发芽也只生成一个菌体，细菌数量并未增加，因而芽胞不是细菌的繁殖方式。与芽胞相比，未形成芽胞而具有繁殖能力的菌体可称为繁殖体（vegetative form）。

细菌的芽胞发芽（germination）成繁殖体的过程，可分为活化（activation）、启动（initiation）和长出（outgrowth）三个连续阶段。整个过程大约需要90min。热刺激（如60℃ 1h或85℃ 5min）和pH降低均可活化芽胞发芽，L-丙氨酸、葡萄糖、肌苷和腺苷均为启动剂。芽胞壳经活化后，其富含二硫键的蛋白构型变化，引起渗透性改变，致使阳离子渗入，细胞膜脂质活性增强，并启动电子传递链。同时，随着水分渗入，芽胞特有成分吡啶二羧酸钙、皮质肽聚糖和芽胞壳物质等大量降解，使芽胞通透性加强，耐热、抗辐射等特性消失。由于代谢活性和呼吸增强，生物合成加速，顺序为RNA、蛋白质、脂质，最后是DNA。继而芽胞核心体积增大、皮质膨松、芽胞壳破裂，芽管长出并逐渐长大、发育成新的繁殖体细胞。

2．芽胞的功能　细菌的芽胞对热力、干燥、辐射、化学消毒剂等理化因素均有强大的抵抗力。一般细菌繁殖体在80℃水中迅速死亡，而有的细菌芽胞可耐100℃沸水数小时。被炭疽芽胞杆菌芽胞污染的草原，传染性可保持20～30年。

细菌芽胞并不直接引起疾病，仅当发芽成为繁殖体后，才能迅速大量繁殖而致病。例如土壤中常有破伤风梭菌的芽胞，一旦外伤深部创口被泥土污染，进入伤口的芽胞在适宜条件下即可发芽成繁殖体再产毒致病。

被芽胞污染的用具、敷料、手术器械等，用一般方法不易将其杀死，杀灭芽胞最可靠的方法是高压蒸气灭菌。当进行消毒灭菌时，应以芽胞是否被杀死作为判断灭菌效果的指标。

细菌芽胞抵抗力强的原因，可能与下列因素有关：①芽胞含水量少，约占繁殖体的40%，蛋白

质受热后不易变性；②芽胞具有多层致密的厚膜，理化因素不易透入；③芽胞的核心和皮质中含有一种特有的化学组分吡啶二羧酸（dipicolinic acid，DPA），DPA 与钙结合生成的盐能提高芽胞中各种酶的热稳定性。芽胞形成过程中很快合成 DPA，同时也获得耐热性；芽胞发芽时，DPA 从芽胞内渗出，其耐热性亦随之丧失。

第三节　细菌形态与结构检查法

一、显微镜放大法

细菌形体微小，肉眼不能直接看到，必须藉助显微镜放大后才能观察。

普通光学显微镜　普通光学显微镜（light microscope）以可见光（日光或灯光）为光源，波长 0.4～0.7μm，平均约 0.5μm。其分辨率为光波波长的一半，即 0.25μm。0.25μm 的微粒经油镜放大1 000倍后成 0.25mm，人的眼睛便能看清。一般细菌都大于 0.25μm，故可用普通光学显微镜予以观察。

电子显微镜　电子显微镜（electron microscope）是利用电子流代替可见光波，以电磁圈代替放大透镜。电子波长极短，约为 0.005nm，其放大倍数可达数十万倍，能分辨 1nm 的微粒。不仅能看清细菌的外形，内部超微结构也可一览无遗。电子显微镜显示的形象，可投射到荧光屏上，也可照相拍摄。当前使用的电子显微镜有两类，即透射电子显微镜（transmission electron microscope，TEM）和扫描电子显微镜（scanning electron microscope，SEM）。SEM 的分辨率一般较 TEM 低，但可清楚地显示物体的三维立体图像。配合电子显微镜观察使用的标本制备方法有用磷钨酸或钼酸铵作负染色、投影法（shadowing）、超薄切片（ultrathin section）、冰冻蚀刻法（freeze etching）等。电子显微镜标本须在真空干燥的状态下检查，故不能观察活的微生物。

此外，尚有暗视野显微镜（darkfield microscope）、相差显微镜（phase contrast microscope）、荧光显微镜（fluorescence microscope）和同焦点显微镜（cofocal microscope）等，适用于观察不同情况下的细菌形态和（或）结构。

二、染　色　法

细菌体小半透明，经染色后才能观察较清楚。染色法是染色剂与细菌细胞质的结合。最常用的染色剂是盐类。其中，碱性染色剂（basic stain）由有色的阳离子和无色的阴离子组成，酸性染色剂（acidic stain）则相反。菌细胞富含核酸，可以与带正电荷的碱性染色剂结合；酸性染色剂不能使细菌着色，而使背景着色形成反差，故称为负染（negative staining）。

染色法有多种，最常用最重要的分类鉴别染色法是革兰染色法（Gram stain）。该法是丹麦细菌学家革兰（Hans Christian Gram）于 1884 年创建，至今仍在广泛应用。标本固定后，先用碱性染料结晶紫初染，再加碘液媒染，使之生成结晶紫-碘复合物；此时不同细菌均被染成深紫色。然后用 95％乙醇处理，有些细菌被脱色，有些不能。最

后用稀释复红或沙黄复染。此法可将细菌分为两大类：不被乙醇脱色仍保留紫色者为革兰阳性菌，被乙醇脱色后复染成红色者为革兰阴性菌。革兰染色法在鉴别细菌、选择抗菌药物、研究细菌致病性等方面都具有极其重要的意义。

革兰染色法的原理尚未完全阐明。但与菌细胞壁结构密切相关，如果在结晶紫-碘染后，乙醇脱色前去除革兰阳性菌的细胞壁，革兰阳性菌细胞就能够被脱色。目前，对革兰阳性和革兰阴性菌细胞壁的化学组分已十分清楚，但对革兰阳性菌细胞壁阻止染料被溶出的原因尚不清楚。

细菌染色法中尚有单染色法、抗酸染色法，以及荚膜、芽胞、鞭毛、细胞壁、核质等特殊染色法。

（陈锦英）

第2章　细菌的生理

细菌的生理活动包括摄取和合成营养物质，进行新陈代谢及生长繁殖。整个生理活动的中心是新陈代谢，细菌的代谢活动十分活跃而且多样化，乃至繁殖迅速是其显著的特点。研究细菌的生理活动不仅是基础生物学科的范畴，而且与医学、环境卫生、工农业生产等都密切相关。诸如对于人体的正常菌群，特别是益生菌（probiotic），如何促进其生长繁殖和产生有益的代谢产物。对于致病菌，了解其代谢与致病的关系，设计和寻找有关诊断和防治的方法。利用细菌的代谢来净化环境，开发极端环境的微生物资源等都具有重要的理论和实际意义。

第一节　细菌的理化性状

一、细菌的化学组成

细菌和其他生物细胞相似，含有多种化学成分，包括水、无机盐、蛋白质、糖类、脂质和核酸等。水分是菌细胞重要的组成部分，占细胞总重量的75%～90%。菌细胞去除水分后，主要为有机物，包括碳、氢、氮、氧、磷和硫等。还有少数的无机离子，如钾、钠、铁、镁、钙、氯等；用以构成菌细胞的各种成分及维持酶的活性和跨膜化学梯度。细菌尚含有一些原核细胞型微生物所特有的化学组成，如肽聚糖、胞壁酸、磷壁酸、D型氨基酸、二氨基庚二酸、吡啶二羧酸等。这些物质在真核细胞中还未发现。

二、细菌的物理性状

光学性质　细菌为半透明体。当光线照射至细菌，部分被吸收，部分被折射，故细菌悬液呈混浊状态。菌数越多浊度越大，使用比浊法或分光光度计可以粗略地估计细菌的数量。由于细菌具有这种光学性质，可用相差显微镜观察其形态和结构。

表面积　细菌体积微小，相对表面积大，有利于同外界进行物质交换。如葡萄球菌直径约1μm，则$1cm^3$体积的表面积可达$60000cm^2$；直径为1cm的生物体，每cm^3体积的表面积仅$6cm^2$，两者相差1万倍。因此细菌的代谢旺盛，繁殖迅速。

带电现象　细菌固体成分的50%～80%是蛋白质，蛋白质由兼性离子氨基酸组成。革兰阳性菌pI为2～3，革兰阴性菌pI为4～5，故在近中性或弱碱性环境中，细菌均带负电荷，尤以前者所带负电荷更多。细菌的带电现象与细菌的染色反应、凝集反应、抑菌和杀菌作用等都有密切关系。

半透性　细菌的细胞壁和细胞膜都有半透性，允许水及部分小分子物质通过，有利于吸收营养和排出代谢产物。

渗透压　细菌体内含有高浓度的营养物质和无机盐，一般革兰阳性菌的渗透压高达20～25个大气压，革兰阴性菌为5～6个大气压。细菌所处一般环境相对低渗，但有坚韧细胞壁的保护不致崩裂。若处于比菌内渗透压更高的环境中，菌体内水分逸出，胞质浓缩，细菌就不能生长繁殖。

第二节　细菌的营养与生长繁殖

一、细菌的营养类型

各类细菌的酶系统不同，代谢活性各异，因而对营养物质的需要也不同。根据细菌所利用的能源和碳源不同，将细菌分为两大营养类型

高，铁的浓度达到0.6mg/L时则完全不产毒。在人体内，大部分铁结合在铁蛋白、乳铁蛋白或转铁蛋白中，细菌必须与人体细胞竞争得到铁才能生长繁殖。具有载铁体(siderophore)的细菌就有此竞争力，它可与铁螯合和溶解铁，并带入菌体内以供代谢之需。如结核分枝杆菌的有毒株和无毒株的一个重要区别就是前者有一种称为分枝菌素(mycobactin)的载铁体，而后者则无。一些微量元素并非所有细菌都需要，不同菌只需其中的一种或数种。

生长因子 许多细菌的生长还需一些自身不能合成的生长因子(growth factor)，通常为有机化合物，包括维生素、某些氨基酸、嘌呤、嘧啶等。少数细菌还需特殊的生长因子，如流感嗜血杆菌需要X、V两种因子，X因子是高铁血红素，V因子是辅酶Ⅰ或辅酶Ⅱ，两者为细菌呼吸所必需。

三、细菌摄取营养物质的机制

水和水溶性物质可以通过具有半透膜性质的细胞壁和细胞膜进入细胞内，蛋白质、多糖等大分子营养物需经细菌分泌的胞外酶的作用分解成小分子物质才能被吸收。

营养物质进入菌体内的方式有被动扩散和主动转运系统。

被动扩散 被动扩散指营养物质从浓度高向浓度低的一侧扩散，其驱动力是浓度梯度，不需要提供能量。将不需要任何细菌组分的帮助，营养物就可以进入细胞质内的过程称为简单扩散。如果需要菌细胞的特异性蛋白来帮助或促进营养物的跨膜转运称为易化扩散。如甘油的转运就属于后者，进入细胞内的甘油要被甘油激酶催化形成磷酸甘油才能在菌体内积累。

主动转运系统 主动转运系统是细菌吸收营养物质的主要方式，其特点是营养物质从浓度低向浓度高的一侧转运，并需要提供能量。细菌有如下三种主动转运系统：

1. 依赖于周浆间隙结合蛋白的转运系统(periplasmic-binding protein-dependent transport system) 营养物与周浆间隙内的受体蛋白结合后，引起后者构型的改变，继而将营养物转送给细胞膜上的ATP结合型载体(ATP-binding cassette-type carrier)，导致ATP水解提供能量和营养物通过细胞膜进入胞质内。革兰阳性菌以膜结合脂蛋白作为该系统的受体蛋白。

2. 化学渗透驱使转运系统(chemiosmotic-driven transport system) 该系统利用膜内外两侧质子或离子浓度差产生的质子动力(proton motive force)或钠动力(sodium motive force)作为驱使营养物越膜转移的能量。转运营养物的载体是电化学离子梯度透性酶，这种酶是一种能够进行可逆性氧化还原反应的疏水性膜蛋白，即在氧化状态与营养物结合，而在还原状态时其构象发生变化，使营养物释放进入胞质内。

3. 基团转移(group translation) 营养物在转运的过程中被磷酸化，并将营养物的转运与代谢相结合，更为有效地利用能量。如大肠埃希菌摄入葡萄糖需要的磷酸转移酶系统，细胞膜上的载体蛋白首先在胞质内从磷酸烯醇丙酮酸获得磷酸基团后，在细胞膜的外表面与葡萄糖相结合，将其送入胞质内后释放出6-磷酸葡萄糖。经过磷酸化的葡萄糖在胞内累积，不能再逸出菌体。该系统的能量供体是磷酸烯醇丙酮酸。

需要指出的是各种细菌的转运营养物质的方式不同，即使对同一种物质，不同细菌的摄取方式也不一样。

四、影响细菌生长的环境因素

营养物质、能量和适宜的环境是细菌生长繁殖的必备条件。

营养物质　充足的营养物质可以为细菌的新陈代谢及生长繁殖提供必要的原料和能量。

氢离子浓度（pH）　每种细菌都有一个可生长的pH范围，以及最适生长pH。大多数嗜中性细菌生长的pH范围是6.0～8.0，嗜酸性细菌最适生长pH可低至3.0，嗜碱性细菌最适生长pH可高达10.5。多数病原菌最适pH为7.2～7.6，在宿主体内极易生存；个别细菌如霍乱弧菌在pH8.4～9.2生长最好，结核分枝杆菌生长的最适pH为6.5～6.8。细菌依靠细胞膜上的质子转运系统调节菌体内的pH，使其保持稳定，包括ATP驱使的质子泵，Na^+/H^+和K^+/H^+交换系统。

温度　各类细菌对温度的要求不一。藉此分为嗜冷菌（psychrophile），其生长范围-5～30℃，最适生长为10～20℃；嗜温菌（mesophile），生长范围10～45℃，最适20～40℃；嗜热菌（thermophile），生长范围25～95℃，最适50～60℃。病原菌在长期进化过程中适应人体环境，均为嗜温菌，最适生长温度为人的体温，即37℃。当细菌突然暴露于高出适宜生长温度的环境时，可暂时合成热休克蛋白（heat-shock proteins）。这种蛋白对热有抵抗性，并可稳定菌体内热敏感的蛋白质。

气体　根据细菌代谢时对分子氧的需要与否，可以分为四类。

1．专性需氧菌（obligate aerobe）　具有完善的呼吸酶系统，需要分子氧作为受氢体以完成需氧呼吸，仅能在有氧环境下生长。如结核分枝杆菌、霍乱弧菌。

2．微需氧菌（microaerophilic bacterium）　在低氧压（5%～6%）生长最好，氧浓度>10%对其有抑制作用。如空肠弯曲菌、幽门螺杆菌。

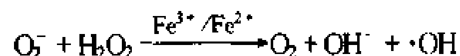
3．兼性厌氧菌（facultative anaerobe）　兼有需氧呼吸和无氧发酵两种功能，不论在有氧或无氧环境中都能生长，但以有氧时生长较好。大多数病原菌属于此。

4．专性厌氧菌（obligate anaerobe）　缺乏完善的呼吸酶系统，利用氧以外的其他物质作为受氢体，只能在无氧环境中进行发酵。有游离氧存在时，不但不能利用分子氧，且还将受其毒害，甚至死亡。如破伤风梭菌、脆弱类杆菌。

专性厌氧菌在有氧环境中不能生长，可能由于下述原因：

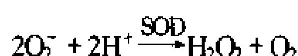
（1）缺乏氧化还原电势（Eh）高的呼吸酶：各种物质均有其固有的Eh。在氧化还原过程中，Eh高的物质可氧化Eh低的物质，反之不能。人组织的Eh约为150mV，普通培养基在有氧环境中Eh可达300mV左右，因此细菌必须具有Eh比它们更高的呼吸酶，如细胞色素和细胞色素氧化酶，才能氧化环境中的营养物质。专性厌氧菌缺乏这类高Eh呼吸酶，只能在120mV以下的Eh时生长，有氧时Eh高于此值，故不能生长。

（2）缺乏分解有毒氧基团的酶：细菌在有氧环境中代谢时，常产生具有强烈杀菌作用的超氧阴离子（O_2^-）和过氧化氢（H_2O_2）。在有铁存在条件下，这两种物质还可产生对生物大分子有损害作用的羟基（·OH）。



$$O_2^- + H_2O_2 \xrightarrow{Fe^{3+}/Fe^{2+}} O_2 + OH^- + \cdot OH$$

需氧菌有超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）和触酶（catalase），前者将超氧阴离子还原成过氧化氢，后者将过氧化氢分解为水和分子氧。



$$2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$



$$2H_2O_2 \xrightarrow{触酶} 2H_2O + O_2$$

有的细菌不产生触酶，而是产生过氧化物酶（peroxidase），将 H_2O_2 还原成无毒的水分子。



$$H_2O_2 + AH_2 \xrightarrow{过氧化物酶} 2H_2O + A\ (某种有机物)$$

专性厌氧菌缺乏这三种酶，故在有氧时受到有毒氧基团的影响，就不能生长繁殖。

渗透压 一般培养基的盐浓度和渗透压对大多数细菌是安全的，少数细菌如嗜盐菌（halophilic bacterium）需要在高浓度（3%）的 NaCl 环境中生长良好。

五、细菌的生长繁殖

细菌的生长繁殖表现为细菌的组分和数量的增加。

细菌个体的生长繁殖 细菌一般以简单的二分裂方式（binary fission）进行无性繁殖。在适宜条件下，多数细菌繁殖速度很快。细菌分裂数量倍增所需要的时间称为代时（generation time），多数细菌为 20～30min。个别细菌繁殖速度较慢，如结核分枝杆菌的代时达 18～20h。

细菌分裂时菌细胞首先增大，染色体复制。革兰阳性菌的染色体与中介体相连，当染色体复制时，中介体一分为二，各向两端移动，分别将复制好的一条染色体拉向菌细胞的一侧。接着染色体中部的细胞膜向内陷入，形成横隔。同时细胞壁亦向内生长，最后肽聚糖水解酶使细胞壁的肽聚糖的共价键断裂，分裂成为两个菌细胞。革兰阴性菌无中介体，染色体直接连接在细胞膜上。复制产生的新染色体则附着在邻近的一点上，在两点间形成的新细胞膜将各自的染色体分隔在两侧。最后细胞壁沿横隔内陷，整个细胞分裂成两个子代细胞。

细菌群体的生长繁殖 细菌生长速度很快，一般细菌约 20min 分裂一次。若按此速度计算，一个细胞经 7h 可繁殖到约 200 万个，10h 后可达 10 亿以上，细菌群体将庞大到难以想象的程度。但事实上由于细菌繁殖中营养物质的逐渐耗竭，有害代谢产物的逐渐积累，细菌不可能始终保持高速度的无限繁殖。经过一段时间后，细菌繁殖速度渐减，死亡菌数增多，活菌增长率随之下降并趋于停滞。

将一定数量的细菌接种于适宜的液体培养基中，连续定时取样检查活菌数，可发现其生长过程的规律性。以培养时间为横坐标，培养物中活菌数的对数为纵坐标，可绘制出一条生长曲线（growth curve）（图 2-1）。

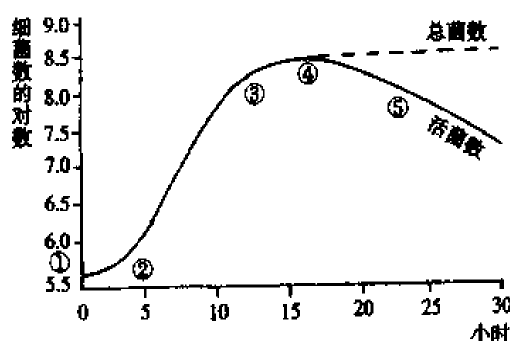


图 2-1 大肠埃希菌的生长曲线
①～②迟缓期 ②～③对数期
③～④稳定期 ④～⑤衰亡期

根据生长曲线，细菌的群体生长繁殖可分为四期：

1．迟缓期（lag phase） 细菌进入新环

境后的短暂适应阶段。该期菌体增大，代谢活跃，为细菌的分裂繁殖合成并积累充足的酶、辅酶和中间代谢产物；但分裂迟缓，繁殖极少。迟缓期长短不一，按菌种、接种菌的菌龄和菌量，以及营养物等不同而异，一般为1～4h。

2. 对数期（logarithmic phase）　又称指数期（exponential phase）。细菌在该期生长迅速，活菌数以恒定的几何级数增长，生长曲线图上细菌数的对数呈直线上升，达到顶峰状态。此期细菌的形态、染色性、生理活性等都较典型，对外界环境因素的作用敏感。因此，研究细菌的生物学性状（形态染色、生化反应、药物敏感试验等）应选用该期的细菌。一般细菌对数期在培养后的8～18h。

3. 稳定期（stationary phase）　由于培养基中营养物质消耗，有害代谢产物积聚，该期细菌繁殖速度渐减，死亡数逐渐增加，细菌形态、染色性和生理性状常有改变。一些细菌的芽胞、外毒素和抗生素等代谢产物大多在稳定期产生。

4. 衰亡期（decline phase）　稳定期后细菌繁殖越来越慢，死亡数越来越多，并超过活菌数。该期细菌形态显著改变，出现衰退型或菌体自溶，难以辨认；生理代谢活动也趋于停滞。因此，陈旧培养的细菌难以鉴定。

细菌生长曲线只有在体外人工培养的条件下才能观察到。在自然界或人类、动物体内繁殖时，受多种环境因素和机体免疫因素的多方面影响，不可能出现在培养基中的那种典型的生长曲线。

细菌的生长曲线在研究工作和生产实践中都有指导意义。掌握细菌生长规律，可以人为地改变培养条件，调整细菌的生长繁殖阶段，更为有效地利用对人类有益的细菌。例如在培养过程中，不断地更新培养液和对需氧菌进行通气，使细菌长时间地处于生长旺盛的对数期，这种培养称为连续培养。

第三节　细菌的新陈代谢与能量转换

细菌的新陈代谢是指菌细胞内分解代谢与合成代谢的总和，其显著特点是代谢旺盛和代谢类型的多样化。

细菌的代谢过程以胞外酶水解外环境中的大分子营养物质开始，产生亚单位分子（单糖、短肽、脂肪酸），经主动或被动转运机制进入胞质内。这些亚单位分子在一系列酶的催化作用下，经过一种或多种途径转变为共同通用的中间产物丙酮酸；再从丙酮酸进一步分解产生能量或合成新的碳水化合物、氨基酸、脂类和核酸。在上述过程中，底物分解和转化为能量的过程称为分解代谢；所产生的能量用于细胞组分的合成称为合成代谢；将两者紧密结合在一起称为中间代谢。伴随代谢过程细菌还将产生许多在医学上有重要意义的代谢产物。

一、细菌的能量代谢

细菌能量代谢活动中主要涉及ATP形式的化学能。细菌的有机物分解或无机物氧化过程中释放的能量通过底物磷酸化或氧化磷酸化合成ATP。

生物体能量代谢的基本生化反应是生物氧化。生物氧化的方式包括加氧、脱氢和脱电子反应，细菌则以脱氢或氢的传递更为常见。在有氧或无氧环境中，各种细菌的生物氧化过程、代谢产物和产生能量的多少均有所不同。以有机物为受氢体的称为发酵；以无机物为受氢体的称为呼吸，其中以分子氧为受氢体的是有氧呼吸，以其他无机物（硝酸盐、硫酸盐等）为受氢体的是厌氧呼吸。需氧呼吸在有氧条件下进行，厌氧呼吸和发酵必须在无氧条件下进行。

病原菌合成细胞组分和获得能量的基质（生物氧化的底物）主要为糖类，通过糖的氧化或酵解释放能量，并以高能磷酸键的形式（ADP、ATP）储存能量。现以葡萄糖为例，简述细菌的能量代谢。

发酵

1. EMP（Embden-Meyerhof-Parnas）途径　又称糖酵解。这是大多数细菌共有的基本代谢途径，专性厌氧菌产能的惟一途径。反应最终的受氢体为未彻底氧化的中间代谢产物，产生能量远比需氧呼吸少。1分子葡萄糖可生成2分子丙酮酸，产生2分子ATP和2分子 $NADH+H^+$。关于丙酮酸以后的代谢随细菌的种类不同而异。

2. 磷酸戊糖途径　又称一磷酸己糖（hoxose monophasphate，HMP）途径，是EMP途径的分支，由己糖生成戊糖的循环途径。其主要功能是为生物合成提供前体和还原能，反应获得的12（$NADPH+H^+$）可供进一步利用，产能效果仅为EMP途径的一半，所以不是产能的主要途径。

需氧呼吸　1分子葡萄糖在有氧条件下彻底氧化，生成 CO_2、H_2O，并产生38分子ATP。需氧呼吸中，葡萄糖经过EMP途径生成丙酮酸，后者脱羧产生乙酰辅酶A后进入三羧酸循环彻底氧化。然后将脱出的氢进入电子传递链进行氧化磷酸化，最终以分子氧作为受氢体。需氧菌和兼性厌氧菌进行需氧呼吸。

厌氧呼吸　专性厌氧菌没有需氧电子传递链和完整的三羧酸循环，1分子葡萄糖经厌氧糖酵解只能产生2分子ATP，最终以外源的无机氧化物（CO_2、SO_4^{2-}、NO_3^-）作为受氢体的--类产能效率低的特殊呼吸。

二、细菌的代谢产物

（一）分解代谢产物和细菌的生化反应　各种细菌所具有的酶不完全相同，对营养物质的分解能力亦不一致，因而其代谢产物有别。根据此特点，利用生物化学方法来鉴别不同细菌称为细菌的生化反应试验。常见的有：

糖发酵试验　不同细菌分解糖类的能力和代谢产物不同。例如大肠埃希菌能发酵葡萄糖和乳糖；而伤寒沙门菌可发酵葡萄糖，但不能发酵乳糖。即使两种细菌均可发酵同一糖类，其结果也不尽相同，如大肠埃希菌有甲酸脱氢酶，能将葡萄糖发酵生成的甲酸进一步分解为 CO_2 和 H_2，故产酸并产气；而伤寒沙门菌缺乏该酶，发酵葡萄糖仅产酸不产气。

VP（Voges-Proskauer）试验　大肠埃希菌和产气肠杆菌均能发酵葡萄糖，产酸产气，两者不能区别。但产气肠杆菌能使丙酮酸脱羧生成中性的乙酰甲基甲醇，后者在碱

性溶液中被氧化生成二乙酰，二乙酰与含胍基化合物反应生成红色化合物，是为VP试验阳性。大肠埃希菌不能生成乙酰甲基甲醇，故VP试验阴性，

甲基红（methyl red）试验 产气肠杆菌分解葡萄糖产生丙酮酸，后者经脱羧后生成中性的乙酰甲基甲醇，故培养液pH>5.4，甲基红指示剂呈桔黄色，是为甲基红试验阴性。大肠埃希菌分解葡萄糖产生丙酮酸，培养液pH≤4.5，甲基红指示剂呈红色，则为甲基红试验阳性。

枸橼酸盐利用（citrate utilization）试验 当某些细菌（如产气肠杆菌）利用铵盐作为唯一氮源，并利用枸橼酸盐作为唯一碳源时，可在枸橼酸盐培养基上生长，分解枸橼酸盐生成碳酸盐，并分解铵盐生成氨，使培养基变为碱性，是为该试验阳性。大肠埃希菌不能利用枸橼酸盐为唯一碳源，故在该培养基上不能生长，是为枸橼酸盐试验阴性。

吲哚（indol）试验 有些细菌如大肠埃希菌、变形杆菌、霍乱弧菌等能分解培养基中的色氨酸生成吲哚（靛基质），经与试剂中的对二甲基氨基苯甲醛作用，生成玫瑰吲哚而呈红色，是为吲哚试验阳性。

硫化氢试验 有些细菌如沙门菌、变形杆菌等能分解培养基中的含硫氨基酸（如胱氨酸、甲硫氨酸）生成硫化氢，硫化氢遇铅或铁离子生成黑色的硫化物。

尿素酶试验 变形杆菌有尿素酶，能分解培养基中的尿素产生氨，使培养基变碱，以酚红为指示剂检测为红色，是为尿素酶试验阳性。

细菌的生化反应用于鉴别细菌，尤其对形态、革兰染色反应和培养特性相同或相似的细菌更为重要。吲哚（I）、甲基红（M）、VP（V）、枸橼酸盐利用（C）四种试验常用于鉴定肠道杆菌，合称为IMViC试验。例如大肠埃希菌对这四种试验的结果是“++−−”，产气肠杆菌则为“−−++”。

现代临床细菌学已普遍采用微量、快速的生化鉴定方法。根据鉴定的细菌不同，选择系列生化指标，依反应的阳性或阴性选取数值，组成鉴定码，形成以细菌生化反应为基础的各种数值编码鉴定系统。同时，也可用细菌鉴定软件分析细菌的生化反应谱。更为先进的如VITEK全自动细菌鉴定及高级专家系统药敏报告仪完成了细菌生化鉴定的自动化。此外，应用气相、液相色谱法鉴定细菌分解代谢产物中挥发性或非挥发性有机酸和醇类，能够快速确定细菌的种类。

（二）合成代谢产物及其在医学上的意义 细菌利用分解代谢中的产物和能量不断合成菌体自身成分，如细胞壁、多糖、蛋白质、脂肪酸、核酸等，同时还合成一些在医学上具有重要意义的代谢产物。

热原质（pyrogen） 或称致热原。是细菌合成的一种注入人体或动物体内能引起发热反应的物质。产生热原质的细菌大多是革兰阴性菌，热原质即其细胞壁的脂多糖。

热原质耐高温，高压蒸气灭菌（121℃、20min）亦不被破坏，250℃高温干烤才能破坏热原质。用吸附剂和特殊石棉滤板可除去液体中大部分热原质，蒸馏法效果最好。因此，在制备和使用注射药品过程中应严格遵守无菌操作，防止细菌污染。

毒素与侵袭性酶 细菌产生外毒素和内毒素两类毒素，在细菌致病作用中甚为重要。外毒素（exotoxin）是多数革兰阳性菌和少数革兰阴性菌在生长繁殖过程中释放到菌体外的蛋白质；内毒素（endotoxin）是革兰阴性菌细胞壁的脂多糖，当菌体死亡崩解后游离出来。外毒素毒性强于内毒素。

某些细菌可产生具有侵袭性的酶，能损伤机体组织，促使细菌的侵袭和扩散，是细菌重要的致病物质。如产气荚膜梭菌的卵磷脂酶，链球菌的透明质酸酶等。

色素 某些细菌能产生不同颜色的色素，有助于鉴别细菌。细菌的色素有两类，一类为水溶性，能弥散到培养基或周围组织，如铜绿假单胞菌产生的色素使培养基或感染的脓汁呈绿色。另一类为脂溶性，不溶于水，只存在于菌体，使菌落显色而培养基颜色不变，如金黄色葡萄球菌的色素。细菌色素产生需要一定的条件，如营养丰富、氧气充足、温度适宜。细菌色素不能进行光合作用，其功能尚不清楚。

抗生素 某些微生物代谢过程中产生的一类能抑制或杀死某些其他微生物或肿瘤细胞的物质，称为抗生素。抗生素大多由放线菌和真菌产生，细菌产生的少，只有多粘菌素（polymyxin）、杆菌肽（bacitracin）等。

细菌素 某些菌株产生的一类具有抗菌作用的蛋白质称为细菌素（bactericin）。细菌素与抗生素不同的是作用范围狭窄，仅对与产生菌有亲缘关系的细菌有杀伤作用。例如大肠埃希菌产生的细菌素称大肠菌素（colicin），其编码基因位于 Col 质粒上。细菌素在治疗上的应用价值已不被重视，但可用于细菌分型和流行病学调查。

维生素 细菌能合成某些维生素除供自身需要外，还能分泌至周围环境中。例如人体肠道内的大肠埃希菌，合成的 B 族维生素和维生素 K 也可被人体吸收利用。

第四节　细菌的人工培养

了解细菌的生理需要，掌握细菌生长繁殖的规律，可用人工方法提供细菌所需要的条件来培养细菌，以满足不同的需求。

一、培养细菌的方法

人工培养细菌，除需要提供充足的营养物质使细菌获得生长繁殖所需要的原料和能量外，尚要有适宜的环境条件，如酸碱度、渗透压、温度和必要的气体等。

根据不同标本及不同培养目的，可选用不同的接种和培养方法。常用的有细菌的分离培养和纯培养两种方法。已接种标本或细菌的培养基置于合适的气体环境，需氧菌和兼性厌氧菌置于空气中即可，专性厌氧菌须在无游离氧的环境中培养。多数细菌在代谢过程中需要 CO_2，但分解糖类时产生的 CO_2 已足够其所需，且空气中还有微量 CO_2，不必额外补充。只有少数菌如布鲁菌、脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌等，初次分离培养时必须在 5%～10% CO_2 环境中才能生长。

病原菌的人工培养一般采用 35～37℃，培养时间多数为 18～24h，但有时需根据菌种及培养目的作最佳选择，如细菌的药物敏感试验则应选用对数期的培养物。

二、培 养 基

培养基（culture medium）是由人工方法配制而成的，专供微生物生长繁殖使用的混合营养物制品。培养基一般 pH 为 7.2～7.6，少数的细菌按生长要求调整 pH 偏酸或偏碱。许多细菌在代谢过程中分解糖类产酸，故常在培养基中加入缓冲剂，以保持稳定的 pH。培养基制成后必须经灭菌处理。

培养基按其营养组成和用途不同，分为以下几类：

基础培养基 基础培养基（basic medium）含有多数细菌生长繁殖所需的基本营养成分。它是配制特殊培养基的基础，也可作为一般培养基用。如营养肉汤（nutrient broth）、营养琼脂（nutrient agar）、蛋白胨水等。

增菌培养基 若了解某种细菌的特殊营养要求，可配制出适合这种细菌而不适合其他细菌生长的增菌培养基（enrichment medium）。包括通用增菌培养基和专用增菌培养基，前者为基础培养基中添加合适的生长因子或微量元素等，以促使某些特殊细菌生长繁殖，例如链球菌、肺炎链球菌需在含血液或血清的培养基中生长；后者又称为选择性增菌培养基，即除固有的营养成分外，再添加特殊抑制剂，有利于目的菌的生长繁殖，如碱性蛋白胨水用于霍乱弧菌的增菌培养。

选择培养基 在培养基中加入某种化学物质，使之抑制某些细菌生长，而有利于另一些细菌生长，从而将后者从混杂的标本中分离出来，这种培养基称为选择培养基（selective medium）。例如培养肠道致病菌的 SS 琼脂，其中的胆盐能抑制革兰阳性菌，枸橼酸钠和煌绿能抑制大肠埃希菌，因而使致病的沙门菌和志贺菌容易分离到。若在培养基中加入抗生素，也可起到选择作用。实际上有些选择培养基、增菌培养基之间的界限并不十分严格。

鉴别培养基 用于培养和区分不同细菌种类的培养基称为鉴别培养基（differential medium）。利用各种细菌分解糖类和蛋白质的能力及其代谢产物不同，在培养基中加入特定的作用底物和指示剂，一般不加抑菌剂，观察细菌在其中生长后对底物的作用如何，从而鉴别细菌。如常用的糖发酵管、三糖铁培养基、伊红-美蓝琼脂等。

厌氧培养基 专供厌氧菌的分离、培养和鉴别用的培养基，称为厌氧培养基（anaerobic medium）。这种培养基营养成分丰富，含有特殊生长因子，氧化还原电势低，并加入美蓝作为氧化还原指示剂。其中心、脑浸液和肝块、肉渣含有不饱和脂肪酸，能吸收培养基中的氧；硫乙醇酸盐和半胱氨酸是较强的还原剂；维生素 K1、氯化血红素可以促进某些类杆菌的生长。常用的有庖肉培养基（cooked meat medium ）、硫乙醇酸盐肉汤等，并在液体培养基表面加入凡士林或液体石蜡以隔绝空气。

此外，还可根据对培养基成分了解的程度将其分为两大类：化学成分确定的培养基（defined medium），又称为合成培养基（synthetic medium）；和化学成分不确定的培养基（undefined medium），又称天然培养基（complex medium）。也可根据培养基的物理状态的不同分为液体、固体和半固体 三大类。在液体培养基中加入 1.5%～2.5%的琼脂粉，即凝固成固体培养基；琼脂粉含量在 0.3%～0.5%时，则为半固体培养基。琼

脂在培养基中起赋形剂作用，对病原菌不具营养意义。液体培养基可用于大量繁殖细菌，但必须种入纯种细菌；固体培养基常用于细菌的分离和纯化；半固体培养基则用于观察细菌的动力和短期保存细菌。

三、细菌在培养基中的生长情况

在液体培养基中生长情况 大多数细菌在液体培养基生长繁殖后呈现均匀混浊状态；少数链状的细菌则呈沉淀生长；枯草芽胞杆菌、结核分枝杆菌等专性需氧菌呈表面生长，常形成菌膜。

在固体培养基中生长情况 将标本或培养物划线接种在固体培养基的表面，因划线的分散作用，使许多原混杂的细菌在固体培养基表面上散开，称为分离培养。一般经过18～24h培养后，单个细菌分裂繁殖成一堆肉眼可见的细菌集团，称为菌落（colony）。挑取一个菌落，移种到另一培养基中，生长出来的细菌均为纯种，称为纯培养（pure culture）。这是从临床标本中检查鉴定细菌很重要的第一步。各种细菌在固体培养基上形成的菌落，在大小、形状、颜色、气味、透明度、表面光滑或粗糙、湿润或干燥、边缘整齐与否，以及在血琼脂平板上的溶血情况等均有不同表现，这些有助于识别和鉴定细菌。此外，取一定量的液体标本或培养液均匀接种于琼脂平板上，可计数菌落，推算标本中的活菌数。这种菌落计数法常用于检测自来水、饮料、污水和临床标本的活菌含量。

细菌的菌落一般分为三型：

1. 光滑型菌落（smooth colony，S型菌落） 新分离的细菌大多呈光滑型菌落，表面光滑、湿润、边缘整齐。

2. 粗糙型菌落（rough colony，R型菌落） 菌落表面粗糙、干燥、呈皱纹或颗粒状，边缘大多不整齐。R型细菌多由S型细菌变异失去菌体表面多糖或蛋白质形成。R型细菌抗原不完整，毒力和抗吞噬能力都比S型菌弱。但也有少数细菌新分离的毒力株就是R型，如炭疽芽胞杆菌、结核分枝杆菌等。

3. 粘液型菌落（mucoid colony，M型菌落） 粘稠、有光泽，似水珠样。多见于有厚荚膜或丰富粘液层的细菌，如肺炎克雷伯菌等。

在半固体培养基中生长情况 半固体培养基粘度低，有鞭毛的细菌在其中仍可自由游动，沿穿刺线呈羽毛状或云雾状混浊生长。无鞭毛细菌只能沿穿刺线呈明显的线状生长。

四、人工培养细菌的用途

在医学中的应用 细菌培养对疾病的诊断、预防、治疗和科学研究都具有重要的作用。

1. 感染性疾病的病原学诊断 明确感染性疾病的病原菌必须取病人有关标本进行细菌分离培养、鉴定和药物敏感试验，其结果可指导临床用药。

2. 细菌学的研究 有关细菌生理、遗传变异、致病性和耐药性等研究都离不开细

菌的培养和菌种的保存等。

3．生物制品的制备　供防治用的疫苗、类毒素、抗毒素、免疫血清及供诊断用的菌液、抗血清等均来自培养的细菌或其代谢产物。

在工农业生产中的应用　细菌培养和发酵过程中多种代谢产物在工农业生产中有广泛用途、可制成抗生素、维生素、氨基酸、有机溶剂、酒、酱油、味精等产品。细菌培养物还可生产酶制剂，处理废水和垃圾，制造菌肥和农药等。

在基因工程中的应用　将带有外源性基因的重组 DNA 转化给受体菌，使其在菌体内能获得表达。细菌操作方便，容易培养，繁殖快，基因表达产物易于提取纯化，故可以大大地降低成本。如应用基因工程技术已成功地制备了胰岛素、干扰素、乙型肝炎疫苗等。

第五节　细菌的分类

一、细菌的分类原则与层次

细菌分类学是一个古老的、传统的学科，又是一个现代化的、发展的学科。细菌的分类原则上分为传统分类和种系分类两种。19 世纪以来，以细菌的形态和生理特征为依据的分类奠定了传统分类的基础，即选择一些较为稳定的生物学性状，如菌体形态与结构、染色性、培养特性、生化反应、抗原性等作为分类的标记。20 世纪 60 年代将数值分类（numerical taxonomy）引入了细菌分类，借助计算机将拟分类的细菌按其性状的相似程度进行归类（一般种的水平相似度＞80％），以此划分种和属。由于对分类性状的选择有一定的主观性，所以传统分类又称为人为分类（artificial classification）。

20 世纪 70 年代以来，化学分析和核酸分析方法引入细菌分类，使细菌种群的划分建立在更为客观的基础上。化学分析应用电泳、色谱、质谱等方法，对菌体组分、代谢产物组成与图谱等特征进行分析，为揭示细菌表型差异提供了有力的手段。核酸分析包括 DNA 碱基组成（G＋C mol％）、核酸分子杂交（DNA-DNA 同源性、DNA-rRNA 同源性）和 16S rRNA 同源性分析，比较细菌大分子（核酸、蛋白质）结构的同源程度进行分类，揭示了细菌进化的信息。这种以细菌发育关系为基础的细菌分类称为系统分类或种系分类（phylogenetic classification），又称为自然分类（natural classification），其中 16S rRNA 更为重要，因其在进化过程中保守、稳定，很少发生变异。1987 年 Woese 在大量 16S rRNA 序列分析的基础上，描绘出生物系统发育树，由真细菌（Eubacteria）、古细菌（Archaeobacteria）和真核生物（Eukaryotes）共同构成并列的生物三原界。真细菌指比较常见的细菌（bacteria）。古细菌和真细菌同为原核生物，核糖体均为 70S。古细菌生存在极端环境（高温、高盐、低 pH），细胞壁无肽聚糖，蛋白质合成起始甲硫氨酸不需甲酰化，tRNA 基因中有内含子，含有多种 RNA 多聚酶，蛋白质合成对白喉毒素的抑制敏感，而对氯霉素的抑制不敏感，这些特性与真核生物相同，而与真细菌不同。目前，尚未在古细菌中发现病原菌。

国际上最具权威性的细菌分类系统专著“伯杰氏系统细菌学手册（1984)”和“伯杰氏鉴定细菌学手册，第9版（1994)”都已反应了细菌种系分类的研究进展，但在具体编排上也保留了许多传统分类的安排。目前，伯杰（Bergey）分类将细菌分为四大类目、35个群，医学细菌包括在内（表2-1)。

表2-1 与医学有关细菌的分类

类别	属
Ⅰ. 革兰阴性有细胞壁的真细菌	
螺旋体	密螺旋体属
	疏螺旋体属
	钩端螺旋体属
需氧/微需氧、有动力、螺旋形/弧形革兰阴性菌	螺菌属
	弯曲菌属
	螺杆菌属
需氧/微需氧、革兰阴性杆菌与球菌	假单胞菌属
	军团菌属
	奈瑟菌属
	莫拉菌属
	产碱杆菌属
	布鲁菌属
	罗卡利马体属
	鲍特菌属
	弗朗西斯菌属
兼性厌氧革兰阴性杆菌	埃希菌属（和大肠杆菌状相关细菌）
	志贺菌属
	沙门菌属
	克雷伯菌属
	变形杆菌属
	普罗威登斯菌属
	耶尔森菌属
	弧菌属
	巴氏杆菌属
	嗜血杆菌属
厌氧革兰阴性直、弯或螺旋形杆菌	类杆菌属
	梭杆菌属
厌氧革兰阴性球菌	韦荣球菌属
立克次体与衣原体	立克次体属
	考克斯体属
	衣原体属
非光合滑行细菌	二氧化碳嗜纤维菌属
Ⅱ. 革兰阳性有细胞壁的细菌	
革兰阳性球菌	肠球菌属

续表

类　别	属
	葡萄球菌属
	链球菌属
	消化链球菌属
可形成芽胞的革兰阳性杆菌与球菌	芽胞杆菌属
	梭菌属
形态规则的无芽胞革兰阳性杆菌	李斯特菌属
	丹毒丝菌属
形态不规则的无芽胞革兰阳性杆菌	棒状杆菌属
	放线菌属
	动弯杆菌属
分枝杆菌	分枝杆菌属
放线菌	奴卡菌属
	链霉菌属
	红球菌属
Ⅲ. 无细胞壁真细菌	支原体属
	脲原体属
Ⅳ. 古细菌	（未发现病原菌）

（Bergey 1994）

自然界生物分为6界，即病毒界、原核生物界、原生生物界、真菌界、植物界和动物界。细菌属于原核生物界，为种系分类的真细菌；广义的细菌包括各类原核细胞型微生物，如细菌、放线菌、衣原体、支原体、立克次体和螺旋体；狭义的细菌专指其中的细菌，它的种类最多、数量最大、最具代表性。

细菌的分类层次与其他生物相同，也是界、门、纲、目、科、属、种。在细菌中常用属和种。

种（species）是细菌分类的基本单位。生物学性状基本相同的细菌群体构成一个菌种；性状相近关系密切的若干菌种组成一个菌属（genus）。同一菌种的各个细菌，虽性状基本相同，但在某些方面仍有一定差异，差异较明显的称亚种（subspecies，subsp.）或变种（variety，var.），差异小的则为型（type）。例如按抗原结构不同而分血清型（serotype）；对噬菌体和细菌素的敏感性不同而分噬菌体型（phage-type）和细菌素型（bacteriocin-type）；生化反应和其他某些生物学性状不同而分为生物型（biotype）。变种因易与亚种混淆，已不再单独使用，与其他词复合构成代替“型”的术语，如biovar就是生物型（biotype）。

对不同来源的同一菌种的细菌称为该菌的不同菌株（strain）。具有某种细菌典型特征的菌株称为该菌的标准菌株（standard strain）或模式菌株（type strain）。

二、细菌的命名法

细菌的命名采用拉丁双名法，每个菌名由两个拉丁字组成。前一字为属名，用名

词，大写；后一字为种名，用形容词，小写。一般属名表示细菌的形态或发现或有贡献者，种名表明细菌的性状特征、寄居部位或所致疾病等。中文的命名次序适与拉丁文相反，是种名在前，属名在后。例如 *Staphylococcus aureus*，金黄色葡萄球菌；*Escherichia coli*，大肠埃希菌；*Neisseria meningitidis*，脑膜炎奈瑟菌等。属名亦可不将全文写出，只用第一个字母代表，如 *M. tuberculosis*，*S. typhi* 等。有些常见菌有其习惯通用的俗名，如 tubercle bacillus，结核杆菌；typhoid bacillus，伤寒杆菌；meningococcus，脑膜炎球菌等。有时泛指某一属细菌，不特指其中某个菌种，则可在属名后加 *sp.*（单数）或 *spp.*（复数），如 *Salmonella sp.* 表示为沙门菌属中的细菌。

（陈锦英）

第3章　消毒与灭菌

细菌为单细胞生物，极易受外界条件的影响。若环境适宜，生长繁殖极为迅速；若环境变化过剧，细菌因代谢障碍而生长受到抑制，甚至死亡。根据这一现象，可以采用多种物理、化学或生物学方法来抑制或杀死外环境中的病原微生物，以切断传播途径，从而控制或消灭传染病。另外，微生物学实验室和外科手术室等为防止微生物的污染或感染，也需杀灭物品或器械上的微生物。以下术语常用来表示物理或化学方法对微生物的杀灭程度。

消毒（disinfection）　杀死物体上病原微生物的方法，并不一定能杀死含芽胞的细菌或非病原微生物。用以消毒的药品称为消毒剂（disinfectant）。一般消毒剂在常用的浓度下，只对细菌的繁殖体有效，对其芽胞则需要提高消毒剂的浓度和延长作用的时间。

灭菌（sterilization）　杀灭物体上所有微生物的方法。灭菌比消毒要求高，包括杀灭细菌芽胞在内的全部病原微生物和非病原微生物。

抑菌（bacteriostasis）　抑制体内或体外细菌的生长繁殖。常用的抑菌剂（bacteriostat）为各种抗生素，可在体内抑制细菌的繁殖，或在体外用于抑菌试验以检测细菌对抗生素的敏感性。

防腐（antisepsis）　防止或抑制体外细菌生长繁殖的方法。细菌一般不死亡。使用同一种化学药品在高浓度时为消毒剂，低浓度时常为防腐剂。

无菌（asepsis）　不存在活菌的意思。防止细菌进入人体或其它物品的操作技术，称为无菌操作。例如进行外科手术时需防止细菌进入创口，微生物学实验中要注意防止污染和感染。

第一节　物理消毒灭菌法

消毒与灭菌的方法一般可分为物理学方法和化学方法两大类。用于消毒灭菌的物理因素有热力、紫外线、辐射、超声波、滤过、干燥和低温等。

一、热力灭菌法

高温对细菌具有明显的致死作用，因此最常用于消毒和灭菌。多数无芽胞细菌经55～60℃作用30～60min后死亡。湿热80℃经5～10min可杀死所有细菌繁殖体和真菌。细菌的芽胞对高温有很强的抵抗力，例如炭疽芽胞杆菌的芽胞，可耐受5～10min煮沸，肉毒梭菌的芽胞则需煮沸3～5h才死亡。

热力灭菌法分干热灭菌和湿热灭菌两大类，在同一温度下，后者的效力比前者大。这是因为：①湿热中细菌菌体蛋白较易凝固；②湿热的穿透力比干热大；③湿热的蒸气有潜热存在。水由气态变为液态时放出的潜热，可迅速提高被灭菌物体的温度。

干热灭菌法　干热的杀菌作用是通过脱水干燥和大分子变性。一般细菌繁殖体在干燥状态下，80～100℃经1h可被杀死；芽胞则需160～170℃经2h才死亡。

1. 焚烧　直接点燃或在焚烧炉内焚烧。是一种彻底的灭菌方法，但仅适用于废弃物品或动物尸体等。

2. 烧灼　直接用火焰灭菌，适用于微生物学实验室的接种环、试管口等的灭菌。

3. 干烤　利用干烤箱灭菌，一般加热至160～170℃经2h。适用于高温下不变质、不损坏、不蒸发的物品，例如玻璃器皿、瓷器、玻质注射器等的灭菌。

4. 红外线　红外线是一种0.77～1000μm波长的电磁波，尤以1～10μm波长的热效应最强。但热效应只能在照射到的表面产生，因此不能使物体均匀加热。红外线的杀菌作用与干热相似，利用红外线烤箱灭菌所需的温度和时间亦同于干烤。此法多用于医疗器械的灭菌。

湿热灭菌法

1. 巴氏消毒法（pasteurization）　用较低温度杀灭液体中的病原菌或特定微生物，而仍保持物品中所需的不耐热成分不被破坏的消毒方法。此法由巴斯德创用以消毒酒类，故名。目前主要用于牛乳等消毒。方法有两种：一是加热至61.1～62.8℃ 30min；另一是71.7℃经15～30s，现广泛采用后法。

2. 煮沸法　在1个大气压下，水的煮沸温度为100℃，一般细菌的繁殖体5min能被杀死，细菌芽胞常需煮沸1～2h才被杀灭。此法常用于消毒食具、刀剪、注射器等。水中加入2%碳酸钠，既可提高沸点达105℃，促进芽胞的杀灭，又可防止金属器皿生锈。

3. 流动蒸气消毒法　又称常压蒸气消毒法，是利用一个大气压下100℃的水蒸气进行消毒。细菌繁殖体经15～30min可被杀灭，但芽胞常不被全部杀灭。该法常用的器具是Arnold消毒器，我国的蒸笼具有相同的原理。

4. 间歇蒸气灭菌法（fractional sterilization）　利用反复多次的流动蒸气间歇加热以达到灭菌的目的。将需灭菌物置于流通蒸汽灭菌器内，100℃加热15～30min，杀死其中的繁殖体；但芽胞尚有残存。取出后放37℃孵箱过夜，使芽胞发育成繁殖体，次日再蒸一次，如此连续三次以上，可达到灭菌的效果。此法适用于一些不耐高热的含糖、牛奶等培养基。若有些物质不耐100℃，则可将温度减低至75～80℃，每次加热时间延长至30～60min，次数增加至3次以上，也可达到灭菌目的。

5. 高压蒸气灭菌法　是一种最有效的灭菌方法。灭菌的温度取决于蒸气的压力。在一个大气压下，蒸气的温度是100℃。如果蒸气被限制在密闭的容器中，随着压力升高，蒸气的温度也相应升高。在103.4kPa（1.05kg/cm^2）蒸气压下，温度达到121.3℃，维持15～20min，可杀灭包括细菌芽胞在内的所有微生物。高压蒸汽灭菌器(autoclave)就是根据这一原理制成的，常用于一般培养基、生理盐水、手术敷料等耐

高温、耐湿物品的灭菌。

二、辐射杀菌法

紫外线 波长200～300nm的紫外线（包括日光中的紫外线）具有杀菌作用，其中以265～266nm最强，这与DNA的吸收光谱范围一致。紫外线主要作用于DNA，使一条DNA链上相邻的两个胸腺嘧啶共价结合而形成二聚体，干扰DNA的复制与转录，导致细菌的变异或死亡。紫外线穿透力较弱，普通玻璃、纸张、尘埃、水蒸气等均能阻挡紫外线，故只能用于手术室、传染病房、细菌实验室的空气消毒，或用于不耐热物品的表面消毒。杀菌波长的紫外线对人体皮肤、眼睛有损伤作用，使用时应注意防护。

电离辐射 包括高速电子、X射线和γ射线等。在足够剂量时，对各种细菌均有致死作用。其机制在于产生游离基，破坏DNA。电离辐射常用于大量一次性医用塑料制品的消毒；亦可用于食品的消毒，而不破坏其营养成分。

微波 微波是一种波长为1mm到1m左右的电磁波，可穿透玻璃、塑料薄膜与陶瓷等物质，但不能穿透金属表面。消毒中常用的微波有2450MHz与915MHz两种，多用于检验室用品、非金属器械、无菌病室的食品用具、药杯及其它用品的消毒。

三、滤过除菌法

滤过除菌法（filtration）是用物理阻留的方法将液体或空气中的细菌除去，以达到无菌目的。所用的器具是滤菌器（filter），滤菌器含有微细小孔，只允许液体或气体通过，而大于孔径的细菌等颗粒不能通过。滤过法主要用于一些不耐高温灭菌的血清、毒素、抗生素以及空气等的除菌。滤菌器的除菌性能，与滤器材料的特性、滤孔大小、静电作用等因素有关。滤菌器的种类很多，目前常用的有薄膜滤菌器、素陶瓷滤菌器、石棉滤菌器（亦称Seitz滤菌器）、烧结玻璃滤菌器等。

四、超声波杀菌法

不被人耳感受的高于20千周/s的声波，称为超声波。超声波可裂解多数细菌，尤其是革兰阴性菌更为敏感，但往往有残存者。目前超声波主要用于粉碎细胞，以提取细胞组分或制备抗原等。超声波裂解细菌的机制主要是它通过水时发生的空（腔）化作用，在液体中造成压力改变，应力薄弱区形成许多小空腔，逐渐增大，最后崩破。崩破时的压力可高达1000个大气压。

五、干燥与低温抑菌法

有些细菌的繁殖体在空气中干燥时会很快死亡，例如脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、霍乱弧菌、苍白密螺旋体等。但有些细菌的抗干燥力较强，如溶血性链球菌在尘埃中存活25d，结核分枝杆菌在干痰中数月不死。芽胞的抵抗力更强，如炭疽芽胞杆菌的芽胞耐干燥20余年。干燥法常用于保存食物，浓盐或糖渍食品可使细菌体内水分逸出，造成生理性干燥，使细菌的生命活动停止，从而防止食物变质。

低温可使细菌的新陈代谢减慢，故常用作保存细菌菌种。当温度回升至适宜范围时，又能恢复生长繁殖。为避免解冻时对细菌的损伤，可在低温状态下真空抽去水分，此法称为冷冻真空干燥法（lyophilization）。该法是目前保存菌种的最好方法，一般可保存微生物数年至数十年。

第二节　化学消毒灭菌法

许多化学药物能影响细菌的化学组成、物理结构和生理活动，从而发挥防腐、消毒甚至灭菌的作用。消毒防腐药物一般都对人体组织有害，只能外用或用于环境的消毒。

根据化学消毒剂的杀菌机制不同，主要分以下几类：①促进菌体蛋白质变性或凝固，例如酚类（高浓度）、醇类、重金属盐类（高浓度）、酸碱类、醛类；②干扰细菌的酶系统和代谢，例如某些氧化剂、重金属盐类（低浓度）与细菌的—SH 基结合使有关酶失去活性。③损伤菌细胞膜，例如酚类（低浓度）、表面活性剂、脂溶剂等，能降低

散的作用。常用于消毒的表面活性剂有新洁尔灭、杜灭芬等。

烷化剂 杀菌机制在于对细菌蛋白质和核酸的烷化作用，杀菌谱广，杀菌力强。常用的有甲醛、环氧乙烷和戊二醛等。甲醛与环氧乙烷的杀菌作用主要是取代细菌酶蛋白中氨基、羧基、巯基或羟基上的氢原子，使酶失去活性。戊二醛主要是取代氨基上的氢原子。环氧乙烷能穿透包裹物，对分枝杆菌、病毒、真菌和细菌芽胞均有较强的杀菌力。缺点是对人体有一定毒性，且有些烷化剂，如β-丙脂等可能有致癌作用。

二、消毒剂的应用

病人排泄物与分泌物 粪、尿、脓、痰等，一般多用等量的20%漂白粉、5%石炭酸或2%来苏，搅拌均匀，作用2h再倾去。

皮肤 2.5%碘酒、70%乙醇、2%红汞均可应用。

粘膜 新生儿预防淋病奈瑟菌性眼结膜炎可用1%硝酸银或2%蛋白银滴眼；口腔粘膜消毒可用3%过氧化氢；冲洗尿道、阴道、膀胱等可用0.01%～0.1%洗必泰或0.1%高锰酸钾。

饮水 自来水用氯气，少量的饮用水可用漂白粉。

厕所、阴沟 可用生石灰，其有效成分是氢氧化钙。

空气 常用福尔马林（甲醛溶液）加热法：12.5～25ml/m^3熏蒸12～24h；或福尔马林混合高锰酸钾法：福尔马林40ml加高锰酸钾30g/m^3，熏蒸12～24h；肝炎病房可用过氧乙酸3g/m^3熏蒸90min。

手 一般用2%来苏。当疑有肝炎病毒污染时，用0.2%～0.4%过氧乙酸浸泡1～2min后，流水冲洗。或用2%碘酊涂擦后用70%乙醇擦洗。

常用消毒剂的选用参见表3-1。

表3-1 常用消毒剂的种类、作用机制与用途

类别	作用机制	常用消毒剂	用途
酚类	蛋白质变性，损伤细胞膜，灭活酶类	3%～5%石炭酸 2%来苏 0.01%～0.05%洗必泰	地面、器具表面的消毒，皮肤消毒 术前洗手、阴道冲洗等
醇类	蛋白质变性与凝固，干扰代谢	70%～75%乙醇	皮肤、体温计消毒
重金属盐类	氧化作用，蛋白质变性与沉淀，灭活酶类	0.05%～0.01%升汞 2%红汞 0.1%硫柳汞 1%硝酸银 1%～5%蛋白银	非金属器皿的消毒 皮肤、粘膜、小创伤消毒 皮肤消毒、手术部位消毒 新生儿滴眼、预防淋病奈瑟菌感染
氧化剂	氧化作用，蛋白质沉淀	0.1%高锰酸钾 3%过氧化氢 0.2%～0.3%过氧乙酸 2.0%～2.5%碘酒	皮肤、尿道、蔬菜、水果消毒 创口、皮肤粘膜消毒 塑料、玻璃器材消毒 皮肤消毒

续表

类　别	作用机制	常用消毒剂	用　　途
		0.2ppm～0.5ppm 氯	饮水及游泳池消毒
		10%～20%漂白粉	地面、厕所与排泄物消毒
		0.5%～1.5%漂粉精	地面、墙壁、家具消毒，饮水消毒（0.3%～0.4%/kg）
		0.2%～0.5%氯胺	室内空气及表面消毒，浸泡衣服（0.1%～1.2%）
		4ppm 二氯异氰尿酸钠	水消毒
		3%二氯异氰尿酸钠	空气及排泄物消毒
表面活性剂	损伤细胞膜，灭活氧化酶等酶活性，蛋白质沉淀	0.05%～0.1%新洁尔灭	外科手术洗手，皮肤粘膜消毒，浸泡手术器械
		0.05%～0.1%杜灭芬	皮肤创伤冲洗，金属器械、塑料、橡皮类消毒
烷化剂	菌体蛋白质及核酸烷基化	10%甲醛	物品表面消毒，空气消毒
		50mg/L 环氧乙烷	手术器械、敷料等消毒
		2%戊二醛	精密仪器、内窥镜等消毒
染料	抑制细菌繁殖，干扰氧化过程	2%～4%龙胆紫	浅表创伤消毒
酸碱类	破坏细胞膜和细胞壁，蛋白质凝固	5～10ml/m^3 醋酸加等量水蒸发	空气消毒
		生石灰（按1:4～1:8比例加水配成糊状）	地面、排泄物消毒

第三节　影响消毒灭菌效果的因素

消毒灭菌的效果受环境、微生物种类及消毒剂本身等多种因素的影响。

消毒剂的性质、浓度与作用时间　各种消毒剂的理化性质不同，对微生物的作用大小也有差异。例如表面活性剂对革兰阳性菌的杀灭效果比对革兰阴性菌好；龙胆紫对葡萄球菌作用较强。同一种消毒剂的浓度不同，其消毒效果也不同。绝大多数消毒剂在高浓度时杀菌作用大，当降至一定浓度时只有抑菌作用，但醇类例外，70%乙醇或50%～80%异丙醇的消毒效果最好。消毒剂在一定浓度下，对细菌的作用时间愈长，消毒效果也愈好。

微生物的种类与数量　同一消毒剂对不同微生物的杀菌效果不同，例如一般消毒剂对结核分枝杆菌的作用要比对其他细菌繁殖体的作用差；70%乙醇可杀死一般细菌繁殖体，但不能杀灭细菌的芽胞；必须根据消毒对象选择合适的消毒剂。此外，微生物的数量越大，所需消毒的时间就越长。

温度　温度升高可提高消毒效果。例如2%戊二醛杀灭每毫升含 10^4 个炭疽芽胞杆菌的芽胞，20℃时需 15min，40℃时为 2min，56℃时仅 1min 即可。

酸碱度　消毒剂的杀菌作用受酸碱度的影响。例如戊二醛本身呈中性，其水溶液呈

弱酸性，不具有杀芽胞的作用，只有在加入碳酸氢钠后才发挥杀菌作用。新洁尔灭的杀菌作用是 pH 愈低所需杀菌浓度愈高，在 pH 3 时所需的杀菌浓度，较 pH 9 时要高 10 倍左右。

有机物 环境中有机物的存在，能够影响消毒剂的效果。病原菌常随同排泄物、分泌物一起存在，这些物质可阻碍消毒剂与病原菌的接触，并消耗药品，因而减弱消毒效果。湿度、穿透力、表面张力，以及拮抗物质的存在等，亦对消毒灭菌的效果有影响。

（臧中田）

第4章 噬 菌 体

噬菌体（bacteriophage，phage）是感染细菌、真菌、放线菌或螺旋体等微生物的病毒，本世纪初在葡萄球菌和志贺菌中首先发现。噬菌体具有病毒的一些特性：个体微小，可以通过滤菌器；没有完整的细胞结构，主要由蛋白质构成的衣壳和包含于其中的核酸组成；只能在活的微生物细胞内复制增殖，是一种专性细胞内寄生的微生物。

噬菌体分布极广，凡是有细菌的场所，就可能有相应噬菌体的存在。在人和动物的排泄物或污染的井水、河水中，常含有肠道菌的噬菌体。在土壤中，可找到土壤细菌的噬菌体。噬菌体有严格的宿主特异性，只寄居在易感宿主菌体内，故可利用噬菌体进行细菌的流行病学鉴定与分型，以追查传染源。由于噬菌体结构简单、基因数少，是分子生物学与基因工程的良好实验系统。

第一节 噬菌体的生物学性状

形态与结构 噬菌体很小，在光学显微镜下看不见，需用电子显微镜观察。不同的噬菌体在电子显微镜下有三种形态，即蝌蚪形（图 4-1）、微球形和丝形。大多数噬菌体呈蝌蚪形，由头部和尾部两部分组成（图 4-2）。例如大肠埃希菌 T4 噬菌体头部呈六边形，立体对称，大小约 95×65nm，内含遗传物质核酸；尾部是一管状结构，长 95～125nm，直径 13～20nm，由一个内径约 2.5nm 中空的尾髓和外面包着的尾鞘组成。尾髓具有收缩功能，可使头部核酸注人宿主菌。在头、尾连接处有一尾领结构，可能与头

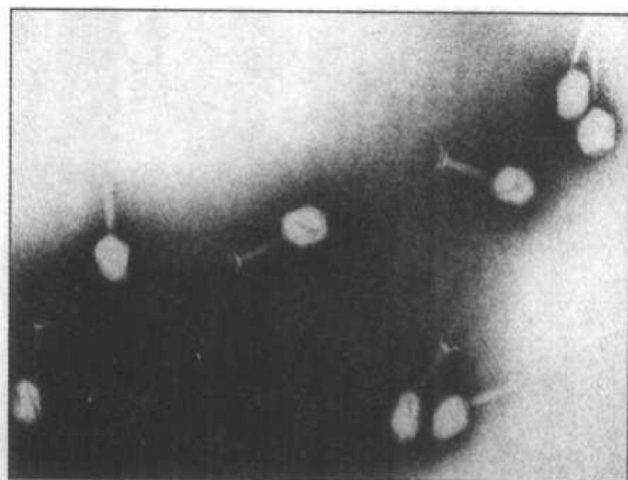


图 4-1 蝌蚪形噬菌体

大肠埃希菌 T 2 噬菌体 （×40 000）

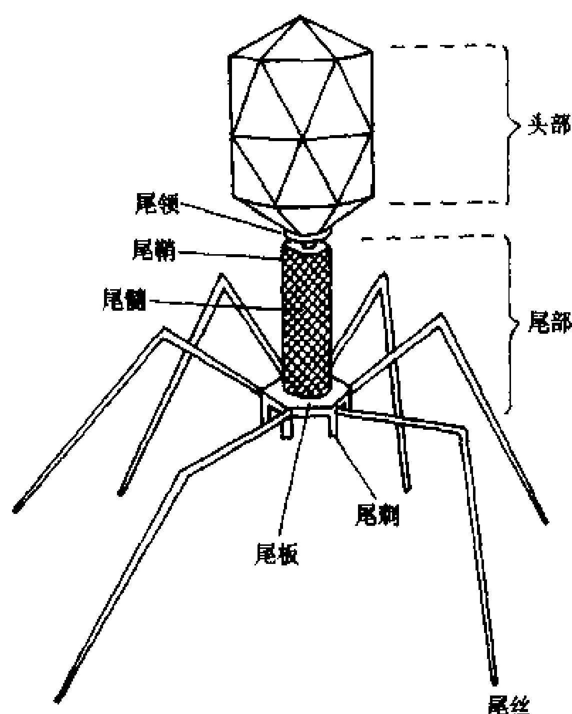


图 4-2 蝌蚪形噬菌体结构模式图

部装配有关。尾部末端有尾板、尾刺和尾丝，尾板内有裂解宿主菌细胞壁的溶菌酶；尾丝为噬菌体的吸附器官，能识别宿主菌体表面的特殊受体。有的噬菌体尾部很短或缺失。

化学组成 噬菌体主要由核酸和蛋白质组成。核酸是噬菌体的遗传物质，常见噬菌体的基因组大小为 2～200kb。蛋白质构成噬菌体头部的衣壳及尾部，包括尾髓、尾鞘、尾板、尾刺和尾丝，起着保护核酸的作用，并决定噬菌体外形和表面特征。

噬菌体的核酸为 DNA 或 RNA，并由此将噬菌体分成 DNA 噬菌体和 RNA 噬菌体两大类。大多数 DNA 噬菌体的 DNA 为线状双链，但一些微小 DNA 噬菌体的 DNA 为环状单链。多数 RNA 噬菌体的 RNA 为线状单链，少数为线状双链，且分成几个节段。有尾噬菌体的核酸均为线状双链 DNA，无尾噬菌体的核酸可为环状单链 DNA 或线状单链 RNA（表 4-1）。噬菌体的 DNA 同样由核苷酸组成，某些噬菌体的基因组含有异常碱基，如大肠埃希菌 T 偶数噬菌体无胞嘧啶，而代以 5-羟甲基胞嘧啶与糖基化的 5-羟甲基胞嘧啶；某些枯草芽胞杆菌噬菌体的 DNA 无胸腺嘧啶，而代以尿嘧啶、5-羟甲基尿嘧啶等。因宿主菌细胞内没有这些碱基，可成为噬菌体 DNA 的天然标记。

表 4-1 噬菌体的形态与核酸特征

噬 菌 体	宿 主 菌	形 态	核 酸
T1-T7、λ、N4	大肠埃希菌	蝌蚪形	dsDNA，线状
P1	志贺菌	蝌蚪形	dsDNA，线状
P22	沙门菌	蝌蚪形	dsDNA，线状
SP01、SP82	枯草芽胞杆菌	蝌蚪形	dsDNA，线状
Φ29	解淀粉芽胞杆菌	蝌蚪形	dsDNA，线状
PM2	假单胞菌	微球形，有包膜*	dsDNA，线状
ΦX174、S13、M12、G4	大肠埃希菌	微球形	ssDNA，线状
f1、fd、M13	大肠埃希菌	丝形	ssDNA，线状
MS2、f2、fr、Qβ	大肠埃希菌	微球形	ssRNA，线状
φ6	假单胞菌	微球形，有包膜*	dsRNA、线状，分成 3 节段

* 噬菌体的外围有一层由脂质双层组成的包膜

抗原性 噬菌体具有抗原性，能刺激机体产生特异性抗体。该抗体能抑制相应噬菌体侵袭敏感细菌，但对已吸附或已进入宿主菌的噬菌体不起作用，噬菌体仍能复制增殖。

抵抗力 噬菌体对理化因素与多数化学消毒剂的抵抗力比一般细菌的繁殖体强；能抵抗乙醚、氯仿和乙醇，一般经 75℃ 30min 或更久才能被灭活。噬菌体能耐受低温和冰冻，但对紫外线和 X 射线敏感，一般经紫外线照射 10～15min 即失去活性。

第二节 毒性噬菌体

根据与宿主菌的相互关系，噬菌体可分成两种类型：一种是能在宿主菌细胞内复制增殖，产生许多子代噬菌体，并最终裂解细菌，称为毒性噬菌体（virulent phage）。另一种是噬菌体基因与宿主菌染色体整合，不产生子代噬菌体，但噬菌体 DNA 能随细菌 DNA 复制，并随细菌的分裂而传代，称为温和噬菌体（temperate phage）或溶原性噬菌体（lysogenic phage）。毒性噬菌体在敏感菌内以复制方式进行增殖，增殖过程包括吸附、穿入、生物合成、成熟和释放几个阶段。从噬菌体吸附至细菌溶解释放出子代噬菌体，称为噬菌体的复制周期或溶菌周期。

吸附 吸附是噬菌体与细菌表面受体发生特异性结合的过程（图 4-3），其特异性取决于噬菌体蛋白与宿主菌表面受体分子结构的互补性。不同噬菌体的吸附方式不同，丝形噬菌体以其末端吸附，有尾噬菌体以尾丝、尾刺吸附。丝形噬菌体如 M13、f1 等及微球形噬菌体如 MS2 等是吸附于细菌的性菌毛上，所以只感染有性菌毛的 F^+ 菌。只要细菌具有特异性受体，不论是活或已死亡，噬菌体都能吸附，但噬菌体不能进入死亡的宿主菌。

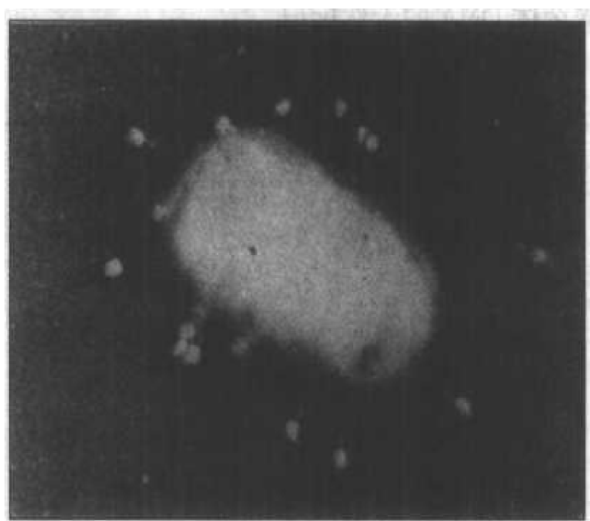


图 4-3 噬菌体吸附于大肠埃希菌 （×20 000）

穿入 有尾噬菌体吸附宿主菌后，借助尾部末端含有的一种类似溶菌酶的物质，在细菌胞壁上溶一小孔，然后通过尾鞘的收缩，将头部 DNA 注入细菌体内，而蛋白质衣

壳留在菌细胞外（图 4-4）。无尾噬菌体与丝形噬菌体可以脱壳的方式进入细菌细胞内。

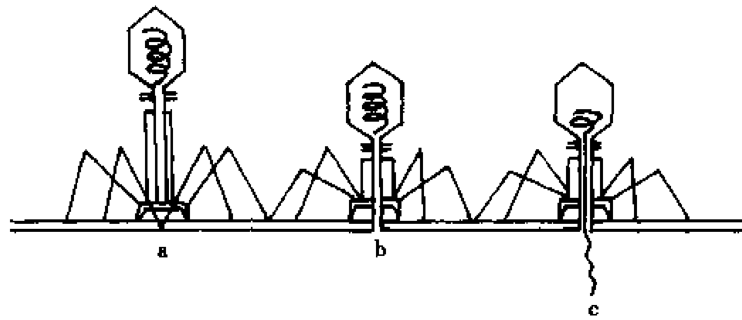


图 4-4 噬菌体吸附宿主菌模式图

a. 吸附于宿主菌 b. 尾板扩张，尾鞘收缩 c. 核酸注入菌体

生物合成 噬菌体核酸进入菌细胞后，一方面通过转录形成 mRNA，再由此转译成噬菌体所需的，与生物合成有关的酶、调节蛋白和结构蛋白。另一方面，以噬菌体核酸为模板，通过核酸多聚酶的催化作用，大量复制子代噬菌体的基因核酸。

成熟与释放 待噬菌体的蛋白质与基因核酸分别合成后，立即在细菌胞质内按一定程序装配成完整的成熟噬菌体。当子代噬菌体达到一定数目时，菌细胞突然裂解，释放出的噬菌体又可感染新的敏感细菌。但有些丝形噬菌体是以出芽的方式逐个释放。

在液体培养基中，噬菌现象可使混浊菌液变为澄清。在固体培养基上，若用适量的噬菌体和宿主菌液混合后接种培养，培养基表面可有透亮的溶菌空斑出现。一个空斑系由一个噬菌体复制增殖并裂解细菌后形成，称为噬斑（plaque），不同噬菌体噬斑的形态与大小不尽相同。若将噬菌体按一定倍数稀释，通过噬斑计数，可测知一定体积内的噬斑形成单位（plaque forming units，pfu）数目，即噬菌体的数量。

第三节 温和噬菌体

温和噬菌体的基因组能与宿主菌基因组整合，并随细菌分裂传至子代细菌的基因组中，不引起细菌裂解。整合在细菌基因组中的噬菌体基因组称为前噬菌体（prophage），带有前噬菌体基因组的细菌称为溶原性细菌（lysogenic bacterium）。前噬菌体偶尔可自发地或在某些理化和生物因素的诱导下脱离宿主菌基因组而进入溶菌周期，产生成熟噬菌体，导致细菌裂解。温和噬菌体的这种产生成熟噬菌体颗粒和溶解宿主菌的潜在能力，称为溶原性（lysogeny）。由此可知，温和噬菌体可有三种存在状态：①游离的具有感染性的噬菌体颗粒；②宿主菌胞质内类似质粒形式的噬菌体核酸；③前噬菌体。另外，温和噬菌体可有溶原性周期和溶菌性周期（图 4-5），而毒性噬菌体只有一个溶菌性周期。

溶原状态通常十分稳定，能经历许多代。但在某些条件如紫外线、X 线、致癌剂、突变剂等作用下，可中断溶原状态而进入溶菌性周期，这称为前噬菌体的诱导与切离（excision），发生率为 $10^{-2}\sim10^{-5}$。极少数溶原性细菌中的前噬菌体离开细菌基因组后，

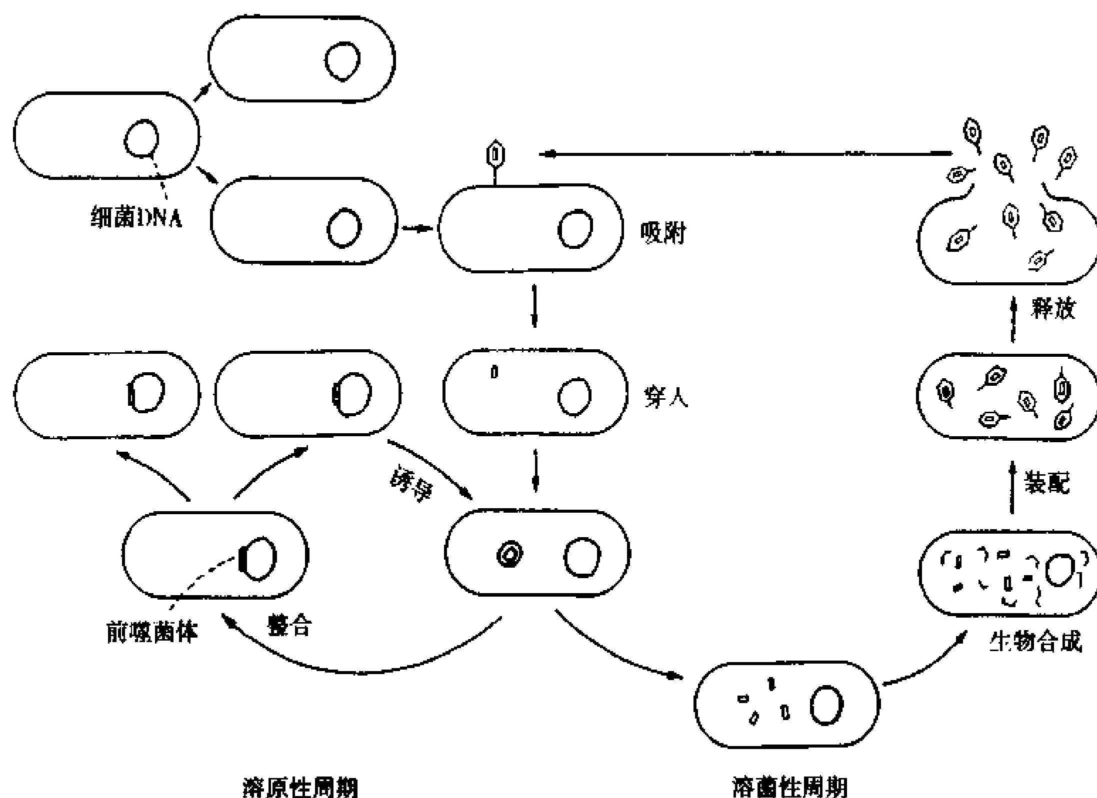


图 4-5 溶原性细菌的溶原性周期和溶菌性周期

不进入溶菌性周期，这个现象被形象地称之为“治愈”。

溶原性细菌具有抵抗同种或有亲缘关系噬菌体重复感染的能力，即使宿主菌处在一种噬菌体免疫状态。

某些前噬菌体可导致细菌基因型和性状发生改变，这称为溶原性转换（lysogenic conversion）。例如白喉棒状杆菌产生白喉毒素，是因其前噬菌体带有毒素蛋白结构基因；A 群溶血性链球菌受有关温和噬菌体感染发生溶原性转换，能产生致热外毒素；肉毒梭菌的毒素、金黄色葡萄球菌溶素的产生，以及沙门菌、志贺菌等的抗原结构和血清型别都与溶原性转换有关。

第四节　噬菌体的应用

细菌的鉴定与分型　噬菌体与宿主菌的关系具有高度特异性，即一种噬菌体只能裂解一种和它相应的细菌，故可用于未知细菌的鉴定和分型。例如用伤寒沙门菌 Vi 噬菌体可将有 Vi 抗原的伤寒沙门菌分为 96 个噬菌体型。这对流行病学调查、追查传染源等具有重要意义。

分子生物学研究的重要工具　噬菌体对基因工程理论与技术的发展已经发挥了重要作用。噬菌体基因数量少，结构比细菌和高等细胞简单得多，而且容易获得大量的突变体，因此成为研究基因复制、转录、重组、表达调控机制等的重要工具；成为研究 DNA、RNA 和蛋白质相互作用的良好模型系统。近年来，利用 λ 噬菌体作为载体构建

基因文库；利用丝形噬菌体表面表达技术构建肽文库、抗体文库和蛋白质文库等，又使噬菌体成为分子生物学研究中的重要载体。

细菌感染的诊断与治疗　应用噬菌体效价增长试验可检测标本中的相应细菌。即在疑有某种细菌存在的标本中，加入一定数量的已知的相应噬菌体，37℃孵育6～8h，再进行该噬菌体的效价测定。若其效价有明显增长，则表明标本中有某种细菌的存在。若在一标本中检出某种噬菌体，且数量较多，也表明有相应细菌的存在。

在某些局部感染时可用噬菌体作为一种辅助治疗，如应用铜绿假单胞菌噬菌体治疗创口感染。但由于噬菌体的特异性过于专一，限制了噬菌体在临床上的广泛应用。

（臧中田）

第 5 章　细菌的遗传与变异

遗传与变异是所有生物的共同生命特征。细菌亦是一种生物，其形态结构、生理代

通常将失去鞭毛的变异称为 H—O 变异，此变异是可逆的。

二、毒 力 变 异

细菌的毒力变异包括毒力的增强和减弱。无毒力的白喉棒状杆菌常寄居在咽喉部，不致病；当它感染了 β-棒状噬菌体（β-corynephage）后变成溶原性细菌，则获得产生白喉毒素的能力，引起白喉。有毒菌株长期在人工培养基上传代培养，可使细菌的毒力减弱或消失。如卡-介（Calmette-Guérin）二氏曾将有毒的牛分枝杆菌在含有胆汁的甘油、马铃薯培养基上，经过 13 年，连续传 230 代，终于获得了一株毒力减弱但仍保持免疫原性的变异株，即卡介苗（BCG）。

三、耐药性变异

细菌对某种抗菌药物由敏感变成耐药的变异称耐药性变异。从抗生素广泛应用以来，细菌对抗生素耐药的不断增长是世界范围内的普遍趋势。金黄色葡萄球菌耐青霉素的菌株已从 1946 年的 14%上升至目前的 80%以上。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（methicillin resistant *Staphylococcus aureus*，MRSA）逐年上升，我国于 1980 年前仅为 5%，1985 年上升至 24%，1992 年以后达 70%。耐青霉素的肺炎链球菌也达 50%以上，1998 年首次报道粪肠球菌耐万古霉素。有些细菌还表现为同时耐受多种抗菌药物，即多重耐药性（multiple resistance），甚至还有的细菌变异后产生对药物的依赖性，如痢疾志贺菌赖链霉素株，离开链霉素则不能生长。细菌的耐药性变异给临床治疗带来很大的困难，并成为当今医学上的重要问题。

四、菌 落 变 异

细菌的菌落主要有光滑（smooth，S）型和粗糙（rough，R）型两种。S 型菌落表面光滑、湿润、边缘整齐。细菌经人工培养多次传代后菌落表面变为粗糙、干燥、边缘不整，即从光滑型变为粗糙型，称为 S—R 变异。S—R 变异常见于肠道杆菌，该型变异是由于失去 LPS 的特异性寡糖重复单位而引起的。变异时不仅菌落的特征发生改变，而且细菌的理化性状、抗原性、代谢酶活性及毒力等也发生改变。

一般而言，S 型菌的致病性强。但有少数细菌是 R 型菌的致病性强，如结核分枝杆菌、炭疽芽胞杆菌和鼠疫耶氏菌等。这在从标本中分离致病菌时，对如何挑选菌落具有实际意义。革兰阴性菌如果失去细胞壁上的 LPS，则细菌将失去特异性 O 抗原，出现抗原性的改变。如宋内志贺菌具有两个变异相，Ⅰ相为 S 型菌落，多从急性痢疾患者中分离到；而Ⅱ相为 R 型菌落，常由慢性患者或带菌者体内分离出。

第二节　细菌遗传变异的物质基础

细菌的遗传物质是 DNA，DNA 藉其构成的特定基因来传递遗传信息。细菌的基因组是指细菌染色体和染色体以外遗传物质所携带基因的总称。染色体外的遗传物质是指

质粒 DNA 和转位因子等。

细菌染色体 细菌染色体是单一的环状双螺旋 DNA 长链，附着在横隔中介体上或细胞膜上。细菌染色体缺乏组蛋白，外无核膜包围。以大肠埃希菌 K12 为例，染色体长 1300～2000μm，约为菌细胞长的 1000 倍，在菌体内高度盘旋缠绕成丝团状。染色体 DNA 的分子量为 3×10^9 左右，约含 4700000bp。若以 600bp 构成一个基因，整个染色体含 4000～5000 个基因，现已知编码了 2000 多种酶类及其他结构蛋白。基因是具有一定生物学功能的核苷酸序列，如编码蛋白质结构基因的作用子（cistron），编码核糖体 RNA（rRNA）的基因以及识别和附着另一分子部位的启动基因（promotor）和操纵基因（operators）等。

细菌染色体 DNA 的复制，在大肠埃希菌已证明是双向复制。即双链 DNA 解链后从复制起点开始，在一条模板上按顺时针方向复制连续的大片段，另一条模板上按逆时针方向复制若干断续的小片段，然后再连接成长链。复制到 180°时汇合。完成复制全过程约需 20min。

质粒 质粒是细菌染色体以外的遗传物质，是环状闭合的双链 DNA，经人工抽提后可变成开环状或线状。质粒有大小两类，大质粒可含几百个基因，占染色体的 1%～10%，小质粒仅含 20～30 个基因，约为染色体的 0.5%。质粒基因可编码很多重要的生物学性状，如①致育质粒或称 F 质粒（fertility plasmid）与有性生殖功能关联，带有 F 质粒的细菌为雄性菌，能长出性菌毛；无 F 质粒的细菌为雌性菌，无性菌毛。②耐药性质粒编码细菌对抗菌药物或重金属盐类的耐药性。耐药性质粒分为二类，其中可以通过细菌间的接合进行传递的称接合性耐药质粒，又称 R 质粒（resistance plasmid）。另一类是不能通过接合传递的非接合性耐药质粒，但它可通过噬菌体传递。③毒力质粒或 Vi 质粒（virulence plasmid）编码与该菌致病性有关的毒力因子。如致病性大肠埃希菌产生的耐热性肠毒素是由 ST 质粒决定的，产生不耐热肠毒素是由 LT 质粒决定的。细菌粘附定植在肠粘膜表面是由 K 质粒决定的；某些金黄色葡萄球菌产生表皮剥脱性毒素引起烫伤样皮肤综合征，就是该菌所携带的毒力质粒决定的。④细菌素质粒编码各种细菌产生细菌素，如 Col 质粒编码大肠埃希菌产生大肠菌素。细菌素对同品系或近缘的细菌具有抑制作用，实际是对产生细菌素细菌本身起保护作用。⑤代谢质粒编码产生相关的代谢酶，如沙门菌发酵乳糖的能力通常是由质粒决定的，另又发现了编码产生 H_2S、脲酶及枸橼酸盐利用酶的若干种质粒。细菌携带有哪种质粒，就有相应的功能，但也有某种质粒可同时决定几种功能。如 F 质粒除有致育性功能外，还能提供辅助质粒转移的能力，某些耐药性质粒上还带有编码毒力的基因，故带此种质粒的细菌，不仅获得了耐药性，而且致病性也得到了增强。

质粒 DNA 的特征有：

1. 质粒具有自我复制的能力。一个质粒是一个复制子（replicon），在细菌内可复制出拷贝（copy）。有的质粒拷贝数只有 1～2 个，其复制往往与染色体的复制同步，称紧密型质粒；有的质粒拷贝数较多，可随时复制，与染色体的复制不相关，称松弛型质粒。

2. 质粒 DNA 所编码的基因产物赋予细菌某些性状特征，如致育性、耐药性、致病性、某些生化特性等。

3. 质粒可自行丢失与消除。质粒并非细菌生命活动不可缺少的遗传物质，可自行

丢失或经紫外线等理化因素处理后消除，随着质粒的丢失与消除，质粒所赋予细菌的性状亦随之消失，但细菌仍存活。

4. 质粒的转移性。质粒可通过接合、转化或转导等方式在细菌间转移，如耐药性质粒的转移，并非限制在革兰阳性与革兰阳性菌或革兰阴性与革兰阴性菌之间，而且也发生在革兰阳性与革兰阴性菌之间，在实验室中甚至能发生在细菌与哺乳动物细胞之间。

5. 质粒可分为相容性与不相容性两种。几种不同的质粒同时共存于一个细菌内称相容性（compatibility），有些质粒则不能相容。

转位因子 转位因子是存在于细菌染色体或质粒 DNA 分子上的一段特异性核苷酸序列片段，它能在 DNA 分子中移动，不断改变它们在基因组的位置，能从一个基因组转移到另一基因组中。转位因子通过位移改变了遗传物质的核苷酸序列，或影响插入点附近基因的表达，或转位因子本身携带一定的基因序列。但是否能引起细菌的变异要根据染色体或质粒受转位因子作用后的整体功能状况。转位因子主要有三类。

1. 插入序列（insertion sequence，IS） 是最小的转位因子，长度不超过 2kb，不携带任何已知与插入功能无关的基因区域，往往是插入后与插入点附近的序列共同起作用，可能是原细胞正常代谢的调节开关之一。

2. 转座子（transposon，Tn） 长度一般超过 2kb，除携带与转位有关的基因外，还携带耐药性基因、抗金属基因、毒素基因及其他结构基因等（表 5-1）。因此当 Tn 插入某一基因时，一方面可引起插入基因失活产生基因突变，另一方面可因带入耐药性基因而使细菌获得耐药性。转座子可能与细菌的多重耐药性有关。

表 5-1 转座子的特征

转座子	携带耐药或毒素基因
Tn1 Tn2 Tn3	AP（氨苄青霉素）
Tn4	AP、SM（链霉素）、Su（磺胺）
Tn5	Km（卡那霉素）
Tn6	Km（卡那霉素）
Tn7	TMP（甲氧苄氨嘧啶）、SM（链霉素）
Tn9	Cm（氯霉素）
Tn 10	Tc（四环素）
Tn 551	Em（红霉素）
Tn 971	Em（红霉素）
Tn 1681	大肠埃希菌（肠毒素基因）

3. 转座噬菌体或前噬菌体（prophage） 是一些具有转座功能的溶原性噬菌体，当整合到细菌染色体上，能改变溶原性细菌的某些生物学性状，如白喉棒状杆菌、肉毒梭菌等的外毒素就是由转座噬菌体的有关基因所编码的。另外，转座噬菌体从细菌染色

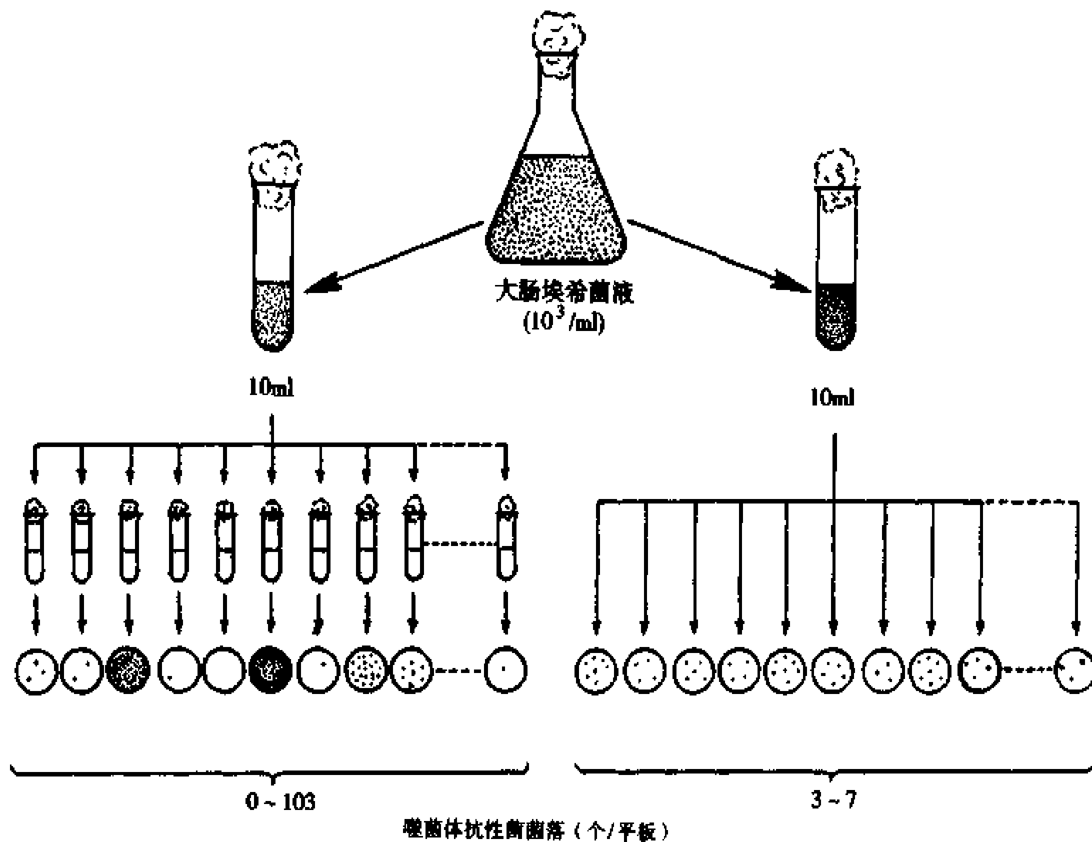


图 5-1 彷徨试验

株才能长出菌落来。药物在此过程中仅起筛选作用。为此 Lederberg 等（1952）设计了影印试验（replica plating）。先将敏感菌点种在不含抗生素的琼脂平板上，待长出分散的单个菌落后，取一块包有无菌丝绒的压模，在琼脂平板表面轻轻按印，使压模丝绒表面粘有细菌菌落印迹，再将此菌落印迹按印到一个含有抗生素的琼脂平板上。经培养后敏感菌完全被抑制，但可见平板上耐药菌菌落的位置，可在原无抗生素平板上找出与耐药菌落相应的菌落，将此相应菌落移种至含抗生素的肉汤中可见细菌生长。琼脂平板上原菌落的细菌从未接触过抗生素，但已对抗生素具有抗性（图 5-2）。上述两个实验证明，突变是自发的、随机的，突变是细菌在接触噬菌体或抗生素之前已经发生，而且突变发生越早，产生抗性突变株的比例就越多。

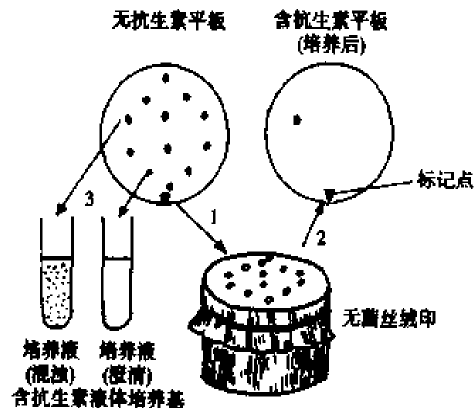


图 5-2 影印培养示意图

3. 回复突变 某种细菌在自然环境下具有的表现型称野生型（wild type），发生突变后的菌株称突变株（mutant）。细菌由野生型变为突变型是正向突变，有时突变株经过又一次突变可恢复野生型的性状，这一过程称回复突变（backward mutation）。回复突变并不一定恢复原来的基因型，再一次突变可以是一个抑制基因突变代偿了第一次突变在性状上的改变。若再次回复突变发生在同一基因的不同部分，称为基因内抑制；若回复突变发生在不同的基因，则称为基因间抑制。

DNA 的损伤修复 当细菌 DNA 受到损伤时，细胞会用有效的 DNA 修复系统进行细致的修复，

以使损伤降为最小，修复机制对细胞的维持生命极其重要。但损伤修复本身也会出现错误，如对损伤DNA片段进行切除修复时可能附带将正常DNA序列切掉；或在DNA损伤之后，或在DNA复制的休止期，DNA应急修复的SOS反应（SOS response）能产生许多（约15个）基因；或在细菌死亡之前，细菌的DNA模板对直接准确的修复已不能利用时，菌细胞只能利用差误倾向的修复（error-prone repair），在以上这些修复过程中都会发生错误而造成细菌的变异。

二、基因的转移与重组

与上述内在基因发生突变不同，外源性的遗传物质由供体菌转入某受体菌细胞内的过程称为基因转移（gene transfer）。但仅有基因的转移尚不够，受体菌必须能容纳外源性基因。转移的基因与受体菌DNA整合在一起称为重组（recombination），使受体菌获得供体菌某些特性。外源性遗传物质包括供体菌染色体DNA片段，质粒DNA及噬菌体基因等。细菌的基因转移和重组可通过转化、接合、转导、溶原性转换和细胞融合等方式进行。

转化 转化（transformation）是供体菌裂解游离的DNA片段被受体菌直接摄取，使受体菌获得新的性状。

转化现象在肺炎链球菌、葡萄球菌和流感嗜血杆菌等中被证实。Griffith（1928）用肺炎链球菌进行试验，有荚膜的肺炎链球菌为Ⅲ型，属光滑（S）型菌落，ⅢS型菌有毒力；无荚膜的肺炎链球菌为Ⅱ型，属粗糙（R）型菌落，ⅡR菌无毒力。分别用ⅡR型菌和ⅢS型菌注射给小鼠，前者存活，后者死亡，而且从死鼠心血中分离到ⅢS型菌。如将ⅢS型菌杀死后再注射小鼠，则小鼠存活。若将杀死的ⅢS型菌与活的ⅡR菌混合在一起给小鼠注射，则小鼠死亡，并从死鼠心血中分离出活的ⅢS型菌（图5-3）。这表明活的ⅡR型菌从死的ⅢS型菌中获得了产生ⅢS型菌荚膜的遗传物质，使活的ⅡR型菌转化为ⅢS型菌。后来Avery（1944）用活的ⅡR型菌加上提取的ⅢS型菌DNA片段注射小鼠，同样致小鼠死亡，且从死鼠中分离到ⅢS型菌，进一步证实引起转化的物质是DNA；如应用DNA酶处理转化物质，可破坏转化。

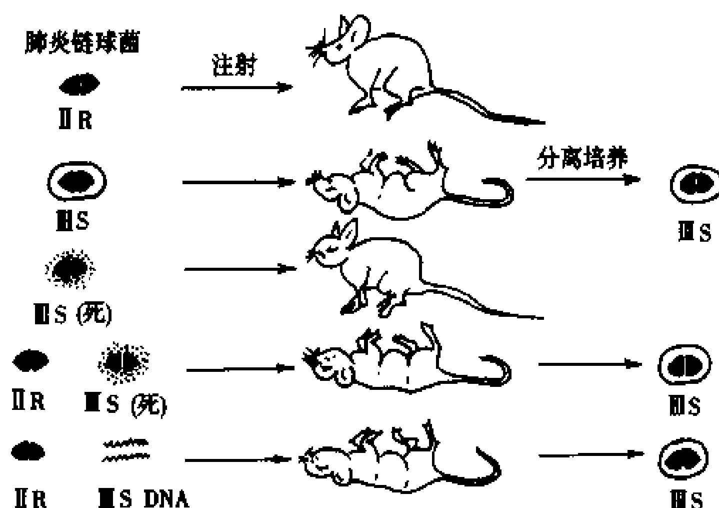


图5-3 小鼠体内肺炎链球菌的转化试验

在转化过程中，转化的 DNA 片段称为转化因子（transforming principle）。分子量小于 1×10^7，最多不超过 10～20 个基因。受体菌只有处于感受态（competence）时，才能摄取转化因子。细菌处于感受态是因为其表面有一种吸附 DNA 的受体。感受态一般出现在细菌对数生长期的后期，保持时间短，仅数分钟至 3～4h。加用 Ca^{2+} 与 Mg^{2+} 处理，可增加感受细胞摄取 DNA 的能力。

在转化时，转化因子首先吸附在受体菌表面受体上，然后再被摄入。在摄入前，供体菌的双链 DNA 片段被受体菌表面的核酸内切酶切开，其中一链进入受体菌，另一链为进入提供能量。进入的供体菌 DNA 片段与受体菌相应 DNA 进行重组，重组后受体菌两 DNA 序列不完全一样。当重组菌繁殖，DNA 复制时，与原型菌一样的 DNA 序列链仍保持原来的性状，而比原型菌多一段外来的供体菌 DNA 序列链的则获得新的性状，成为称作转化菌的突变株。

接合 接合（conjugation）是细菌通过性菌毛相互连接沟通，将遗传物质（主要是质粒 DNA）从供体菌转移给受体菌。能通过接合方式转移的质粒称为接合性质粒，主要包括 F 质粒、R 质粒、Col 质粒和毒力质粒等，不能通过性菌毛在细菌间转移的质粒为非接合性质粒。接合不是细菌的一种固有功能，而是由各种质粒决定的，F 质粒就是主要的一种，因为只有带有 F 质粒的细菌才能生成性菌毛沟通供体菌与受体菌，当 F 质粒丢失后细菌间就不能进行接合。过去一直认为接合只是革兰阴性菌中质粒的特征，近年来发现革兰阳性菌也存在接合系统，主要是粪肠球菌（*E. faecalis*）菌株。

1. F 质粒的接合　带有 F 质粒的细菌有性菌毛，相当于雄菌（F^+）；无性菌毛的无 F 质粒，相当于雌菌（F^-）。象有性生殖一样，当 $F^+\times F^-$ 菌杂交时，F^+ 菌性菌毛末端与 F^- 菌表面受体接合时，性菌毛逐渐缩短使两菌之间靠近并形成通道，F^+ 菌的质粒 DNA 中的一条链断开并通过性菌毛通道进入 F^- 菌内。两菌细胞内的单股 DNA 链以滚环式进行复制，各自形成完整的 F 质粒。因此供体菌虽转移 F 质粒但并不失去，而受体菌获得 F 质粒后即长出性菌毛，成为 F^+ 菌（图 5-4）。通过接合转移 F 质粒的频率可达 70%。

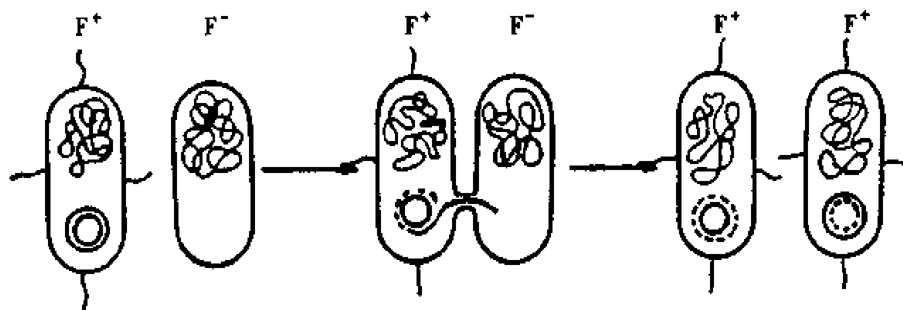


图 5-4　接合时 F 因子的转移与复制

F 质粒进入受体菌后，能单独存在和自行复制，但有小部分 F 质粒可插入到受体菌的染色体中，与染色体一起复制。整合后的细菌能高效地转移染色体上的基因，故称此菌为高频重组菌（high frequency recombinant，Hfr）。在 Hfr 中，F 质粒结合在染色体的末端。当 Hfr 与 F^- 杂交时，F 质粒起发动转移作用。首先从 Hfr 菌染色体伸出一股 DNA 链，通

过性菌毛进入 F^- 菌，整个转移需时约 100min。在转移过程中，任何震动都能使转移中的 DNA 断裂而中止。故在 Hfr 转移中，可有不同长度的供菌染色体片段进入 F^- 菌进行重组。但 F^- 菌获得 F 质粒的机会是很少的，因它位于染色体末端，最后进入 F^- 受体菌。Jacob 应用间断交配（interrupted mating）实验，根据各种基因进入受体菌的先后画出染色体图，找出各基因在大肠埃希菌染色体上排列的序列。此外，由于在染色体上很多部位有 IS，根据 F 质粒在染色体上何一部位插入或切除，就表示该部位有相应的 IS 的存在。

Hfr 菌中的 F 质粒有时会从染色体上脱离下来，终止其 Hfr 状态。从染色体上脱离的有时可带有染色体上几个邻近的基因，这种质粒称为 F′。

F^+、Hfr、F′三种菌都有性菌毛，都为雄菌。在性菌毛表面有一种雄性特异性噬菌体（male specific phage）受体，在电镜下可见相应噬菌体粘附在性菌毛表面。

2. R 质粒的接合　细菌的耐药性与耐药性的基因突变及 R 质粒的接合转移等有关。1959 年在日本首先分离到抗多种药物的宋内志贺菌多重耐药株，而且耐药性的传播迅速，产生这种多重耐药性很难用基因突变解释。细菌对一种抗生素产生耐药性的频率按 10^{-6}计算，则双重耐药的突变率应为 10^{-12}，如此计算，耐三种药物以上的多重耐药突变率会更小。在健康人中分离的大肠埃希菌 30%～50%有 R 质粒，而致病性大肠埃希菌 90%有 R 质粒，而且仅在抗生素问世 25 年左右时就发现约 40%的菌株对链霉素、氯霉素，四环素、青霉素等多种抗生素产生耐药性。提示耐药性与 R 质粒有关，尤其与细菌的多重耐药性关系密切。耐药质粒从一个细菌转移到另一个细菌中，若在有足够的潜在受体菌的情况下，就像连锁反应一样，质粒可转移至各菌达饱和为止。这种情况在早期 R 质粒（如 R_1、R_{100}）的转移动力学研究中已观察到。

R 质粒由耐药传递因子（resistance transfer factor，RTF）和耐药（r）决定子两部分组成，这两部分可以单独存在，也可结合在一起，但单独存在时不能发生质粒的接合性传递。RTF 的功能与 F 质粒相似，可编码性菌毛的产生和通过接合转移；r 决定子能编码对抗菌药物的耐药性，可由几个转座子连接相邻排列，如 Tn9 带有氯霉素耐药基因，Tn4 带有氨苄青霉素、磺胺、链霉素的耐药基因，Tn5 带有卡那霉素的耐药基因。RTF 与 r 决定子之间结合与分离是因为两端有 IS，每个 Tn 两端也均有 IS 可自由结合（图 5-5）。

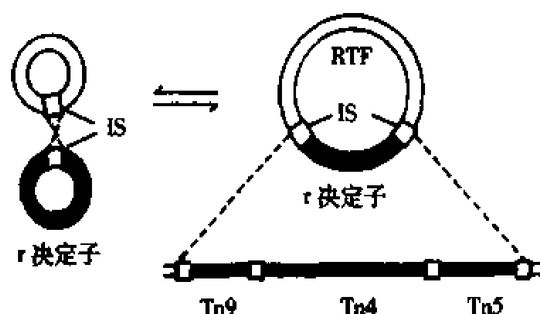


图 5-5　R 质粒结构图

R 质粒决定耐药的机制是：①使细菌产生灭活抗生素的酶类，如 β-内酰胺酶能水解青霉素、头孢菌素等的 β-内酰胺环而使其失去作用。又如通过耐药菌株产生磷酸转移酶以 ATP 为辅基，使链霉素、卡那霉素及新霉素等氨基糖苷类抗生素失活。②R 质粒控制细菌改变药物作用的靶部位。如链霉素和红霉素的结合靶位分别是细菌核糖体上 30S 或 50S 亚基，R 质粒可编码产生甲基化酶，使药物作用靶位上的氮原子甲基化，因而药物不能与核糖体结合，也就不能抑制菌体蛋白的合成。③R 质粒可控制细菌细胞对药物的通透性。如 R 质粒能编码产生新的蛋白质，阻塞了细胞壁上的通水孔，使抗生素

（四环素、异烟肼等）不能进入菌体内。

转导 转导（transduction）是以温和噬菌体为载体，将供体菌的一段 DNA 转移到受体菌内，使受体菌获得新的性状。根据转导基因片段的范围，可分为以下两种转导。

1. 普遍性转导（generalized transduction） 前噬菌体从溶原菌染色体上脱离，进行增殖，在裂解期的后期，噬菌体的 DNA 已大量复制，在噬菌体 DNA 装入外壳蛋白组成新的噬菌体时，在 $10^5 \sim 10^7$ 次装配中会发生一次装配错误，误将细菌的 DNA 片段装入噬菌体的头部，成为一个转导噬菌体。转导噬菌体能以正常方式感染另一宿主菌，并将其头部的染色体注入受体菌内。因被包装的 DNA 可以是供体菌染色体上的任何部分，故称为普遍性转导。普遍性转导也能转导质粒，金黄色葡萄球菌中 R 质粒的转导在医学上具有重要意义。

转导比转化可转移更大片段的 DNA，而且由于包装在噬菌体的头部受到保护，不被 DNA 酶降解，故比转化的效率高。供体 DNA 片段进入受体菌后可发生两种结果，一种是外源性 DNA 片段与受体菌的染色体整合，并随染色体而传代，称完全转导；另一种是外源性 DNA 片段游离在胞质中，既不能与受体菌染色体整合，也不能自身复制，称为流产转导（abortive transduction），后一种结果属大多数（图 5-6）。如编码色氨酸的外源性基因（trp^+）转导至 trp^- 的受体菌中，trp 基因虽呈游离状态，但可使细菌产生色氨酸合成酶，故此菌能在无色氨酸的培养基中生长。但因 trp^+ 基因不能自身复制，故随着细菌分裂始终只有一个子细胞有 trp^+ 基因，另一个没有 trp 基因的子细胞则在无色氨酸的培养基中不能生长，所以流产转导的细菌菌落比正常菌落小得多，易于识别。

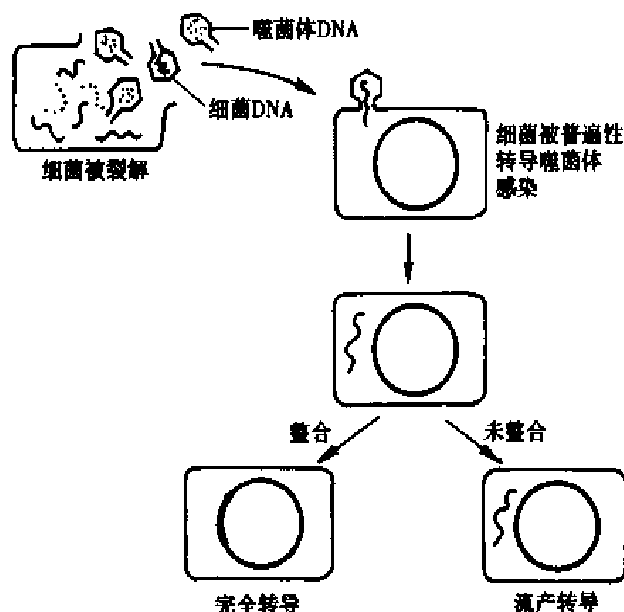


图 5-6 普遍性转导模式图

2. 局限性转导（restricted transduction） 或称特异性转导（specialized transduction），所转导的只限于供体菌染色体上特定的基因。如 λ 噬菌体进入大肠埃希菌 K12 时，当处于溶原期时，噬菌体 DNA 整合在大肠埃希菌染色体的特定部位，即在半乳糖

基因（gal）和生物素基因（bio）之间。当噬菌体 DNA 从细菌染色体上分离，将有 10^{-6}几率发生偏差分离。即噬菌体将其本身 DNA 上的一段留在细菌染色体上，却带走了细菌 DNA 上两侧的 gal 或 bio 基因。这样的噬菌体基因转导并整合到受体菌中，使受体菌获得供体菌的某些遗传性状。由于所转导的只限于供体菌 DNA 上个别的特定基因（如 gal 或 bio），故称局限性转导（图 5-7）。普遍性转导与局限性转导在许多方面不同，其差别见表 5-2。

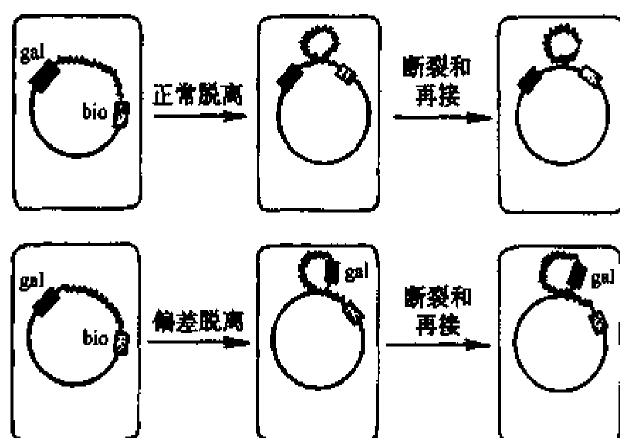


图 5-7 局限性转导模式图

表 5-2 普遍性转导与局限性转导的区别

交换。融合可发生于不相关的两细胞间，甚至不同种类细胞间，这种基因转移的机制称为基因转输（genetic transfusion）。

原生质体融合后，二个完整的染色体合在一起形成二倍体。融合的二倍体细胞寿命很短，但此期间可获得具有亲代细胞许多特异性的重组体。原生质体融合是一种人工基因转移系统，本质上它与基因转移无关或关系很小，然而现已证明原生质体融合是一种有价值的实验工具。

第四节　细菌遗传变异的实际意义

在疾病的诊断、治疗与预防中的应用　由于细菌的变异可发生在形态、结构、染色性、生化特性、抗原性及毒力等方面，故在临床细菌学检查中不仅要熟悉细菌的典型特性，还要了解细菌的变异规律，只有这样才能去伪存真作出正确的诊断。如金黄色葡萄球菌随着耐药性菌株的增加，绝大多数菌株所产生的色素也由金黄色变为灰白色，许多血浆凝固酶阴性的葡萄球菌也成为致病菌，这不仅给诊断和治疗带来困难，而且对以往判断葡萄球菌致病性的指标也产生了怀疑。另外从伤寒患者分离到的伤寒沙门菌中10%的菌株不产生鞭毛，检查时无动力，患者也不产生抗鞭毛（H）抗体。因而进行血清学（肥达）试验时，不出现H凝集或O凝集效价很低，影响正确的判断。

由于抗生素的广泛应用，临床分离的细菌中耐药株日益增多，更发现有对多种抗生素多重耐药的菌株，以致有新药开发研究跟不上细菌耐药性变异形成之势。而且有些耐药质粒同时带有编码毒力的基因，使其致病性增强，这些变异的后果给疾病的治疗带来很大的困难。为此，对临床分离的致病菌，必须在细菌药物敏感试验的指导下正确选择用药，不能滥用抗生素。为提高抗生素的疗效，防止耐药菌株的扩散，应考虑合理的联合用药原则，尤其在治疗慢性疾病需长期用药时，除联合使用抗生素外，还要考虑使用免疫调节剂。

为预防传染病的发生，可用遗传变异的原理诱变病原菌或保留其原有免疫原性的减毒株或无毒株，以制备预防疾病的各种疫苗。近年来尚出现了具有治疗作用的疫苗，为疫苗的应用拓宽了范围。

在测定致癌物质中的应用　肿瘤的发生一般认为是细胞内遗传物质发生了改变，使正常细胞变为转化细胞，因此凡能诱导细菌发生突变的物质都有可能是致癌物质。Ames试验就是根据能导致细菌基因突变的物质均为可疑致癌物的原理设计的。选用几株鼠伤寒沙门菌的组氨酸营养缺陷型（his^-）作试验菌，以被检测的可疑化学物质作诱变剂。因his^-菌在组氨酸缺乏的培养基上不能生长，若发生突变成为his^+菌则能生长。比较含有被检物的试验平板与无检物的对照平板，计数培养基上的菌落数，凡能提高突变率、诱导菌落生长较多者，证明被检物有致癌的可能。

在流行病学中的应用　近年来的分子生物学分析方法已被用于流行病学调查。如用质粒指纹图（plasmid fingerprinting，PFP）的方法来检测不同来源细菌所带质粒的大小，比较质粒的各种酶切图，其产生片段的数目、大小、位置引起某一疾病暴发流行的

流行菌株与非流行菌株，也可用于调查医院感染的各种细菌的某种耐药质粒的传播扩散情况。另外，从对噬菌体敏感性及溶原性，对细菌素的敏感性等也可研究流行菌株的同源性等。

在基因工程中的应用 基因工程是根据遗传变异中细菌可因基因转移和重组而获得新性状的原理设计的。基因工程的主要步骤是：①从供体细胞（细菌或其他生物细胞）的DNA上切取一段需要表达的基因，即所谓目的基因；②将目的基因结合在合适的载体（质粒或噬菌体）上；③通过载体将目的基因转移到工程菌（受体菌）内，随着细菌的大量繁殖表达出大量的目的基因产物。目前通过基因工程已能使工程菌大量生产胰岛素、干扰素、多种生长激素、rIL-2等细胞因子和乙肝疫苗等生物制品。并已探索用基因工程技术治疗基因缺陷性疾病等。今后，基因工程在医学领域和生命科学中必将得到更广泛的应用。

（张卓然）

第6章　细菌的感染与免疫

细菌侵入宿主机体后，进行生长繁殖、释放毒性物质等引起不同程度的病理过程，称为细菌的感染（bacterial infection）或传染。能使宿主致病的为致病菌或病原菌（pathogenic bacterium，pathogen），不能造成宿主感染的为非致病菌或非病原菌（nonpathogenic bacterium，nonpathogen）。这一概念并非绝对的，有些细菌在正常情况下并不致病，但当在某些条件改变的特殊情况下可以致病，这类菌称为条件致病菌（conditioned pathogen）或机会致病菌（opportunistic pathogen）。

致病菌入侵后，在建立感染的同时，能激发宿主免疫系统产生一系列免疫应答与之对抗。其结局根据致病菌和宿主两方力量强弱而定，可为感染不形成；感染形成但逐渐消退，患者康复；或感染扩散，病人死亡。

第一节　正常菌群与条件致病菌

正常菌群　自然界中广泛存在着大量的，多种多样的微生物。人类与自然环境接触密切，因而正常人的体表和同外界相通的口腔、鼻咽腔、肠道、泌尿生殖道等腔道中都寄居着不同种类和数量的微生物。当人体免疫功能正常时，这些微生物对宿主无害，有些对人还有利，是为正常微生物群，通称正常菌群（normal flora）。人体各部位常见的正常菌群见表6-1。

表6-1　人体常见的正常菌群

部位	主要菌类
皮肤	葡萄球菌、类白喉棒状杆菌、铜绿假单胞菌、丙酸杆菌、白假丝酵母菌、非致病性分枝杆菌
口腔	葡萄球菌、甲型和丙型链球菌、肺炎链球菌、奈瑟菌、乳杆菌、类白喉棒状杆菌、放线菌、螺旋体、白假丝酵母菌、梭菌
鼻咽腔	葡萄球菌、甲型和丙型链球菌、肺炎链球菌、奈瑟菌、类杆菌
外耳道	葡萄球菌、类白喉棒状杆菌、铜绿假单胞菌、非致病性分枝杆菌
眼结膜	葡萄球菌、干燥棒状杆菌、奈瑟菌
胃	一般无菌
肠道	大肠埃希菌、产气肠杆菌、变形杆菌、铜绿假单胞菌、葡萄球菌、肠球菌、类杆菌、产气荚膜梭菌、破伤风梭菌、双歧杆菌、真细菌、乳杆菌、白假丝酵母菌
尿道	葡萄球菌、类白喉棒状杆菌、非致病性分枝杆菌
阴道	乳杆菌、大肠埃希菌、类白喉棒状杆菌、白假丝酵母菌

微生态学（microecology）是一门研究微生物与微生物、微生物与宿主，以及微生物和宿主与外界环境相互依存、相互制约的学科；也是研究微观生态平衡（eubiosis）、生态失调（dysbiosis）和生态调整（ecological adjustment）的一门新兴学科。

正常菌群对构成生态平衡起重要作用，其生理学意义有：

1．生物拮抗　致病菌侵犯宿主，首先需突破皮肤和粘膜的生理屏障作用。其中机制之一是寄居的正常菌群通过受体和营养竞争，以及产生有害代谢产物等方式抵抗致病菌，使之不能定植（colonization）或被杀死。实验发现，以鼠伤寒沙门菌攻击小鼠，需10万个活菌才能使其致死；若先给予口服链霉素杀抑正常菌群，则口饲10个活菌就能致死。

2．营养作用　正常菌群参与宿主的物质代谢、营养转化和合成。例如肠道中的大肠埃希菌能合成维生素K等，除供菌自需外，尚有多余为宿主吸收利用。因此，病人若选用的抗生素亦能杀伤大肠埃希菌，则病人将发生该类维生素的缺乏，应予以补充。

3．免疫作用　正常菌群能促进宿主免疫器官的发育；亦可刺激其免疫系统发生免疫应答，产生的免疫物质对具有交叉抗原组分的致病菌有一定程度的抑制或杀灭作用。例如无菌鸡的小肠和回盲部淋巴结较普通鸡小4/5、小肠集合淋巴结也仅为普通鸡的40%大小。若将无菌鸡暴露在普通环境中饲养，使其建立正常菌群，则两周后免疫系统的发育和功能能提高至与普通鸡群相近。

4．抗衰老作用　肠道正常菌群中的双歧杆菌有抗衰老作用。健康乳儿肠道中，双歧杆菌约占肠道菌群的98%。成年后，这类菌数量大减，代之以其他菌群。进入老年后，产生H_2S和吲哚的芽胞杆菌菌类增多。这些有害物质吸收后，可加速机体的衰老过程。

此外，正常菌群可能有一定的抑瘤作用，其机制是转化某些致癌物质成非致癌性，以及激活巨噬细胞等免疫功能等。

条件致病菌　正常菌群与宿主间的生态平衡在某些情况下可被打破，形成生态失调而导致疾病。这样，原来在正常时不致病的正常菌群就成了条件致病菌。这种特定的条件主要有下列几种：

1．寄居部位的改变　例如大肠埃希菌从原寄居的肠道进入泌尿道，或手术时通过切口进入腹腔、血流等。

2．免疫功能低下　应用大剂量皮质激素、抗肿瘤药物或放射治疗等，可造成全方位免疫功能降低。从而使一些正常菌群在寄居原位穿透粘膜等屏障，进入组织或血流，出现各种病症，严重的可导致败血症而死亡。

3．菌群失调（dysbacteriosis）　是宿主某部位正常菌群中各菌种间的比例发生较大幅度变化而超出正常范围的状态。由此产生的病症，称为菌群失调症或菌群交替症（microbial selection and substitution）。菌群失调时，往往可引起二重感染或重叠感染（superinfection）。即在抗菌药物治疗原感染性疾病过程中，发生了另一种新致病菌引起的感染。原因是长期或大量应用抗菌药物后，大多数正常菌群被杀或抑制，而原处于少

数劣势的菌群或外来耐药菌趁机大量繁殖而致病。引起二重感染的常见菌有金黄色葡萄球菌、白假丝酵母菌和一些革兰阴性杆菌。临床表现为假膜性肠炎、肺炎、鹅口疮、尿路感染或败血症等。若发生二重感染，除停用原来的抗菌药物外，对检材培养中优势菌类需进行药敏试验，以选用合适类型的药物。同时，亦可使用有关的微生态制剂，协助调整菌群类型和数量，加快恢复正常菌群的原来生态平衡。

医院获得性感染 医院获得性感染（hospital acquired infection）是指病人在住院期间发生的感染，通称医院内感染（nosocomial infection）。根据传染来源不同，有下列几种情况：①交叉感染，由医院内病人或医务人员直接或间接传播引起的感染；②内源性感染，或称自身感染，由病人自己体内正常菌群引起的感染；③医源性感染，在治疗、诊断或预防过程中，因所用器械等消毒不严而造成的感染。

引起医院获得性感染的微生物可以是通常的致病菌，凡缺乏对该菌特异免疫力的患者受染后可得病。免疫力低下的患者或直接进入正常无菌部位致病的常是条件致病菌。前者引起的医院获得性感染常呈流行暴发趋势，而条件致病菌常是病人在特殊诊疗处理后感染或较严重患者二重感染的主要病原体。

第二节 细菌的致病机制

细菌能引起感染的能力称为致病性（pathogenicity）或病原性。细菌的致病性是对特定宿主而言，有的只对人类有致病性，有的只对某些动物有，有的则对人类和动物都有。不同致病菌对宿主可引起不同的病理过程，例如伤寒沙门菌对人类引起伤寒，而结核分枝杆菌引起结核病。因此，致病性是细菌的特征之一。

致病菌的致病性强弱程度称为毒力（virulence），即致病性的强度，是量的概念。各种致病菌的毒力常不一致，并可随不同宿主而异；即使同种细菌也常因菌型、菌株的不一而有一定的毒力差异。

毒力常用半数致死量（median lethal dose，LD_{50}）或半数感染量（median infective dose，ID_{50}）表示。即在规定时间内，通过指定的感染途径，能使一定体重或年龄的某种动物半数死亡或感染需要的最小细菌数或毒素量。但由于是实验动物，且接种途径常非自然感染途径，故这类指标只能作为判断细菌毒力的参考。

致病菌的致病机制，除与其毒力强弱有关外；侵入宿主机体的菌量，以及侵入部位是否合适等都有着密切的关系。

一、细菌的毒力物质

构成细菌毒力的物质是侵袭力和毒素，但有些致病菌的毒力物质迄今尚未探明。

侵袭力 致病菌能突破宿主皮肤、粘膜生理屏障，进入机体并在体内定植、繁殖和扩散的能力，称为侵袭力（invasiveness）。侵袭力包括荚膜、粘附素和侵袭性物质等。

1．荚膜 荚膜具有抗吞噬和阻挠杀菌物质的作用，使致病菌能在宿主体内大量繁

殖，产生病变。例如将无荚膜的肺炎链球菌注射至小鼠腹腔，细菌易被小鼠吞噬细胞吞噬、杀灭；但若接种有荚膜的菌株，则细菌大量繁殖，小鼠常于注射后24h内死亡。A群链球菌的M蛋白、伤寒沙门菌的Vi抗原，以及大肠埃希菌的K抗原等都是位于这些细菌细胞壁外层的结构，通称为微荚膜，其功能与荚膜相同。

2. 粘附素　细菌引起感染一般需先粘附在宿主的呼吸道、消化道或泌尿生殖道等粘膜上皮细胞，以免被呼吸道的纤毛运动、肠蠕动、粘液分泌、尿液冲洗等活动所清除。然后，细菌在局部定植、繁殖，产生毒性物质或继续侵入细胞、组织，直至形成感染。

细菌粘附至宿主靶细胞由粘附素（adhesin）介导。粘附素是细菌细胞表面的蛋白质，一类由细菌菌毛分泌，另一类非菌毛产生，而是细菌的其他表面组分。大肠埃希菌的Ⅰ型菌毛、定植因子抗原Ⅰ（CFA/Ⅰ）、淋病奈瑟菌菌毛产生的是菌毛粘附素。金黄色葡萄球菌的脂磷壁酸（LTA）、A群链球菌的LTA-M蛋白复合物、苍白密螺旋体的P1-3蛋白、肺炎支原体的P1蛋白等属非菌毛粘附素。不同的粘附素与相配的靶细胞受体始能结合，粘附素受体一般是靶细胞表面的糖类或糖蛋白。例如大肠埃希菌Ⅰ型菌毛粘附素与肠粘膜上皮细胞的D-甘露糖受体结合；衣原体的表面血凝素与靶细胞N-乙酰氨基葡糖受体结合等。

部分细菌的粘附素及其相配受体见表6-2。

表6-2　细菌粘附素及其受体

类　型	产　生　细　菌	靶细胞受体
菌毛粘附素		
Ⅰ型菌毛	大肠埃希菌	D-甘露糖
CFA/Ⅰ	大肠埃希菌	GM-神经节苷脂
P菌毛	大肠埃希菌	P血型糖脂
菌毛	淋病奈瑟菌	GD1神经节苷脂
非菌毛粘附素		
LTA	金黄色葡萄球菌	纤维连结蛋白
LTA-M蛋白复合物	A群链球菌	纤维连结蛋白
表面蛋白质	B群链球菌	N-乙酰氨基葡糖
P1、P2、P3	苍白密螺旋体	纤维连结蛋白
表面血凝素	衣原体	N-乙酰氨基葡糖
P1蛋白	肺炎支原体	唾液酸

细菌的粘附作用与其致病性密切相关。例如从临床标本分离出的肠产毒型大肠埃希菌菌株大多具有菌毛，泌尿道感染的奇异变形杆菌亦如此。志愿者口服肠产毒型大肠埃希菌的无菌毛菌株，不引起腹泻。在大鼠实验性肾盂肾炎模型中，抗特异菌毛抗体有预

防作用。肠产毒型大肠埃希菌菌毛疫苗已用于兽医界，对预防新生小牛、小猪由该菌引起的腹泻作用明显。

3. 侵袭性物质　有些致病菌例如志贺菌、肠侵袭型大肠埃希菌中 140 MD 大质粒上的 inv 基因，能编码侵袭素（invasin），使这些细菌能入侵上皮细胞。假结核耶氏菌和小肠结肠炎耶氏菌，亦能产生侵袭素。福氏志贺菌的 virG 基因所编码的 IPa、IPb、IPc 等侵袭性蛋白，能使该菌向邻近细胞扩散。致病性葡萄球菌凝固酶，能使血浆中的液态纤维蛋白原变成固态的纤维蛋白围绕在细菌表面，犹如荚膜然可抵抗宿主吞噬细胞的吞噬作用。A 群链球菌产生的透明质酸酶、链激酶和链道酶，能降解细胞间质透明质酸、溶解纤维蛋白、液化脓液等中高粘度的 DNA 等，利于细菌在组织中扩散。这些侵袭性物质，一般不具有毒性，但在感染过程中可以协助致病菌抗吞噬或向四周扩散。

毒素　细菌毒素（toxin）按其来源、性质和作用等不同，可分为外毒素（exotoxin）和内毒素（endotoxin）两种。

1. 外毒素　产生菌主要是革兰阳性菌中的破伤风梭菌、肉毒梭菌、白喉棒状杆菌、产气荚膜梭菌、A 群链球菌、金黄色葡萄球菌等。某些革兰阴性菌中的痢疾志贺菌、鼠疫耶氏菌、霍乱弧菌、肠产毒型大肠埃希菌、铜绿假单胞菌等也能产生外毒素。大多数外毒素是在菌细胞内合成后分泌至细胞外；也有存在于菌体内，待菌溶溃后才释放出来的，痢疾志贺菌和肠产毒型大肠埃希菌的外毒素属此。

外毒素的毒性强。1mg 肉毒毒素纯品能杀死 2 亿只小鼠，毒性比 KCN 大 1 万倍。不同细菌产生的外毒素，对机体的组织器官具有选择作用，各引起特殊的病变。例如肉毒毒素能阻断胆碱能神经末梢释放乙酰胆碱，使眼和咽肌等麻痹，引起眼睑下垂、复视、斜视、吞咽困难等，严重者可因呼吸麻痹而死。又如白喉毒素对外周神经末梢、心肌等有亲和性，通过抑制靶细胞蛋白质的合成而导致外周神经麻痹和心肌炎等。

多数外毒素不耐热。例如白喉外毒素在 58～60℃ 经 1—2h，破伤风外毒素在 60℃ 经 20min 可被破坏。但葡萄球菌肠毒素是例外，能耐 100℃ 30min。大多外毒素是蛋白质，具有良好的抗原性。在 0.3%～0.4% 甲醛液作用下，经一定时间，可以脱去毒性，但仍保有免疫原性，是为类毒素（toxoid）。类毒素注入机体后，可刺激机体产生具有中和外毒素作用的抗毒素抗体。类毒素和抗毒素在防治一些传染病中有实际意义，前者主要用于人工主动免疫，后者常用于治疗和紧急预防。

多数外毒素的分子结构为 A-B 模式，即由 A 和 B 两种亚单位组成。A 亚单位是外毒素活性部分，决定其毒性效应。B 亚单位无毒，能与宿主靶细胞表面的特殊受体结合，介导 A 亚单位进入靶细胞。A 或 B 亚单独对宿主无致病作用，因而外毒素分子的完整性是致病的必要条件。利用 B 亚单位能与靶细胞受体结合后阻止受体再与完整外毒素分子结合，且 B 亚单位抗原性强；将 B 亚单位提纯制成疫苗，有可能预防相关的外毒素性疾病。

根据外毒素对宿主细胞的亲和性及作用方式等，可分成神经毒素、细胞毒素和肠毒素三大类（表 6-3）。

表 6-3 外毒素的种类和作用

类型	细菌	外毒素	疾病	作用机制	症状和体征
神经毒素	破伤风梭菌	痉挛毒素	破伤风	阻断上下神经原间正常抑制性神经冲动传递	骨骼肌强制性痉挛
	肉毒梭菌	肉毒毒素	肉毒中毒	抑制胆碱能运动神经释放乙酰胆碱	肌肉松弛性麻痹
细胞毒素	白喉棒状杆菌	白喉毒素	白喉	抑制细胞蛋白质合成	肾上腺出血、心肌损伤、外周神经麻痹
	葡萄球菌	毒性休克综合征毒素 1	毒性休克综合征	增强对内毒素作用的敏感性	发热、皮疹、休克
		表皮剥脱毒素	烫伤样皮肤综合征	表皮与真皮脱离	表皮剥脱性病变
	A 群链球菌	致热外毒素	猩红热	破坏毛细血管内皮细胞	猩红热皮疹
肠毒素	霍乱弧菌	肠毒素	霍乱	激活肠粘膜腺苷环化酶，增高细胞内 cAMP 水平	小肠上皮细胞内水分和钠离子大量丢失、腹泻、呕吐
	产毒型大肠埃希菌	肠毒素	腹泻	不耐热肠毒素同霍乱肠毒素，耐热肠毒素使细胞内 cGMP 增高	同霍乱肠毒素
	产气荚膜梭菌	肠毒素	食物中毒	同霍乱肠毒素	呕吐、腹泻
	葡萄球菌	肠毒素	食物中毒	作用于呕吐中枢	呕吐为主、腹泻

细菌的外毒素多数为 A-B 型分子结构，这类外毒素的作用机制不完全相同，又可分为几种类型：

（1）具腺苷二磷酸核糖基转移酶活性的毒素：这类毒素通过转移烟酰胺腺苷二核苷中的腺苷二磷酸（ADP）核糖，核糖基化真核细胞中腺苷环化酶复合物中的鸟嘌呤核苷结合蛋白。例如百日咳毒素和铜绿假单胞菌毒素 A 靶向的延伸因子-2（EF-2）是三磷酸结合蛋白；肉毒梭菌 C_2 毒素使肌动蛋白结合至腺苷三磷酸；肉毒梭菌 C_3 毒素即 ADP 核糖基转移酶，靶向小分子鸟苷三磷酸结合蛋白 Rho 和 Rac。这类毒素都为 A-5B 结构，即每一外毒素分子由 1 个 A 亚单位和 5 个 B 亚单位组成。包括有霍乱肠毒素、大肠埃希菌不耐热肠毒素、百日咳毒素等。

（2）RNA 糖基化酶毒素：这类毒素的分子结构式为 A-5B。例如痢疾志贺菌产生的志贺毒素和大肠埃希菌 O157:H7 产生的 Vero 毒素。它们的 A 亚单位与蓖麻毒素蛋白的 A 亚单位具有同源性。A 亚单位的 N 糖苷酶，直接作用于靶细胞核糖体的 60S 亚单位，使 28SrRNA 近 3′端的特殊嘌呤残基脱嘌呤。

（3）钙调节蛋白依赖性腺苷酸环化酶毒素：炭疽毒素属此类毒素。它由保护性抗原（PA）、水肿毒素（EF）和致死毒素（LF）三部分组成。单一组分无毒性，PA 和 EF 可引起实验动物皮肤水肿，PA 和 LF 则使动物迅速死亡。PA 和 EF 或 LF 反应产生完全的水肿毒素或致死毒素，符合 A-B 结构模式。水肿因子是一种钙调节蛋白依赖性腺苷酸环化酶，进人靶细胞后导致 cAMP 水平增高。致死毒素是炭疽病死亡的主要毒力因子，它可能是一种金属蛋白酶。

（4）具锌结合内肽酶活性的神经毒素：这类毒素的代表是肉毒神经毒素（BoNT），其结构和功能

与破伤风痉挛毒素（TeTx）相似。BoNT 和 TeTx 产生时为单一多肽，经蛋白酶水解成由二硫键连接的双链毒素。100kDa 重链与神经元受体结合，50kDa 轻链封闭神经递质的释放。这两种毒素均为锌内肽酶，其靶分子是神经元膜内的小突触泡蛋白（synaptobrevin），毒素可将之切割、降解而失活。锌内肽酶活性位于这些毒素的轻链，若锌结合基序发生突变则其活性丧失。

（5）其他梭菌外毒素：艰难梭菌可产生毒素 A（肠毒素）和毒素 B（细胞毒素）。毒素 A 和 B 的靶分子是 Rho，其作用机制尚不清楚。

外毒素的分子结构不是 A—B 型模式的尚有：

（1）损伤细胞膜的毒素：有两种类型。一种具有磷脂酶活性。例如产气荚膜梭菌的 α 毒素是磷脂酶 C；金黄色葡萄球菌的 β 毒素是鞘磷脂酶；水肿梭菌的 β 毒素是卵磷脂酶等。这些毒素消化靶细胞膜的磷脂组分而引起细胞溶解。另一种是毒素本身嵌进细胞膜，使形成小孔。例如金黄色葡萄球菌 α 毒素通过在靶细胞上打孔而损伤细胞；产气荚膜梭菌 β 毒素与金黄色葡萄球菌 α 毒素具有同源性，是一种孔形成毒素；链球菌溶素 O 是结合于靶细胞膜胆固醇的孔形成毒素，在寡聚化后形成小孔。

（2）激素样作用的毒素：例如大肠埃希菌耐热肠毒素 ST-1 能活化肠粘膜上的鸟苷环化酶，使 cGMP 水平增加、导致腹泻。

细菌外毒素中，有一类具有超抗原（superantigen）作用。这些超抗原性外毒素主要是葡萄球菌肠毒素 A-E、毒性休克综合征毒素-1、链球菌致热外毒素 A-C 等。这些毒素是强力的有丝分裂原，能活化一大群 T 细胞。它们结合至抗原递呈细胞上的 MHC Ⅱ 类分子，以及 T 细胞受体 β 区刺激 T 细胞，产生和释放大量 IL-1、IL-2、TNF-α 和 IFN-γ 等细胞因子。超抗原性外毒素引起的病症有毒性休克综合征、猩红热、食物中毒等，也可能与一些自身免疫病有关，例如毒性休克综合征患者常伴有关节炎、滑膜炎等并发症。

2．内毒素　是革兰阴性菌细胞壁中的脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）组分，只有当细菌死亡裂解或用人工方法破坏菌体后才释放出来。螺旋体、衣原体、支原体、立克次体亦有类似的 LPS，有内毒素活性。

内毒素的分子量大于 10 万，其分子结构由 O 特异性多糖、非特异核心多糖和脂质 A 三部分组成（图 6-1）。

内毒素耐热，加热 100℃ 经 1h 不被破坏；需加热至 160℃ 经 2～4h，或用强碱、强酸或强氧化剂加温煮沸 30min 才灭活。不能用甲醛液脱毒成类毒素。内毒素注射机体可产生相应抗体，但中和作用较弱。

内毒素 LPS 能刺激巨噬细胞、血管内皮细胞等产生 IL-1、IL-6、TNF-α 及趋化因子等。小量内毒素诱生的这些细胞因子，可导致适度发热、微血管扩张、炎症反应等对宿主有益的免疫保护应答。但当革兰阴性菌进入血循环发生败血症时，内毒素大量释出，诱生的细胞因子过量，常致患者休克甚至死亡。高浓度的内毒素也可激活补体替代途径，引发高热、低血压，以及活化凝血系统，最后导致弥散性血管内凝血（disseminated intravascular coagulation，DIC）。

脂质 A 是内毒素的主要毒性组分。不同革兰阴性菌的脂质 A 结构虽有差异，但基本相似。因此，不同革兰阴性菌感染时，由内毒素引起的毒性作用大致类同。

（1）发热反应：极微量（1～5ng/kg）内毒素就能引起人体体温上升，维持约 4h 后恢复。其机制是内毒素作用于巨噬细胞等，使之产生 IL-1、IL-6 和 TNF-α 这些具有内源性致热原（endogenous pyrogens）的细胞因子。它们再作用于宿主体下丘脑体温调节

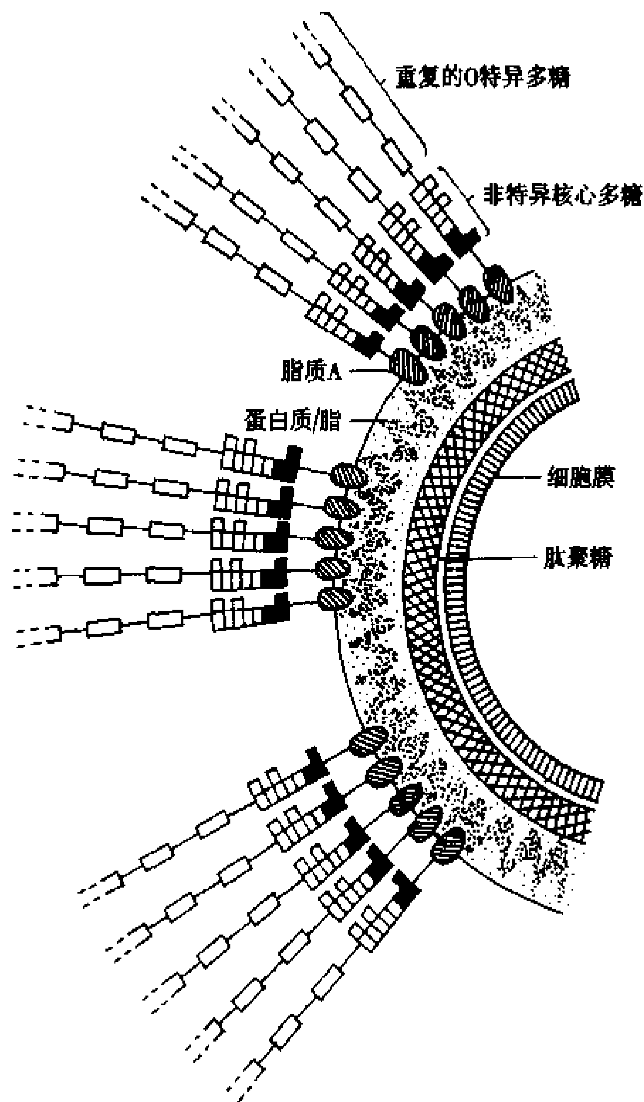


图 6-1 革兰阴性菌细胞壁内毒素

中枢，促使体温升高发热。

(2) 白细胞反应：注射内毒素后，血循环中的中性粒细胞数骤减，系与其移动并粘附至组织毛细血管有关。1～2h 后，LPS 诱生的中性粒细胞释放因子（neutrophil releasing factor）刺激骨髓释放中性粒细胞进入血流，使数量显著增加，且有左移现象。但伤寒沙门菌内毒素是例外，始终使血循环中的白细胞总数减少，机制尚不清楚。

(3) 内毒素血症与内毒素休克：当血液中细菌或病灶内细菌释放大量内毒素入血时，可导致内毒素血症（endotoxemia)。内毒素作用于巨噬细胞、中性粒细胞、内皮细胞、血小板、补体系统、凝血系统等并诱生 TNF-α、IL-1、IL-6、IL-8、组胺、5-羟色胺、前列腺素、激肽等生物活性物质，使小血管功能紊乱而造成微循环障碍，表现为微循环衰竭和低血压、组织器官毛细血管灌注不足、缺氧、酸中毒等。严重时则导致以微循环衰竭和低血压为特征的内毒素休克。

(4) Shwartzman 现象与 DIC：将革兰阴性菌培养物上清或杀死的菌体注射入家兔

皮内，8～24h后再以同样或另一种革兰阴性菌行静脉注射。约10h后，在第一次注射处局部皮肤可出现出血和坏死，是为局部Shwartzman现象。若两次注射均为静脉途径，则动物两侧肾皮质坏死，最终死亡，此为全身性Shwartzman现象。该现象不是抗原与抗体结合的免疫应答反应，因两次注射仅间隔短时间，且两次注射的革兰阴性菌可为无抗原交叉者。在人类的严重革兰阴性菌感染中常出现的DIC，其病理变化和形成机制酷似动物的全身性Shwartzman现象。

细菌外毒素与内毒素的主要区别见表6-4。

表6-4 外毒素与内毒素的主要区别

区别要点	外　毒　素	内　毒　素
来源	革兰阳性菌与部分革兰阴性菌	革兰阴性菌
存在部分	从活菌分泌出，少数菌崩解后释出	细胞壁组分，菌裂解后释出
化学成分	蛋白质	脂多糖
稳定性	60～80℃，30min被破坏	160℃，2～4h才被破坏
毒性作用	强，对组织器官有选择性毒害效应，引起特殊临床表现	较弱，各菌的毒性效应大致相同，引起发热、白细胞增多、微循环障碍、休克、DIC等
抗原性	强，刺激机体产生抗毒素；甲醛液处理脱毒形成类毒素	弱，刺激机体产生的中和抗体作用弱；甲醛液处理不形成类毒素

二、细菌侵入的数量

感染的发生，除致病菌必须具有一定的毒力物质外，还需有足够的数量。菌量的多少，一方面与致病菌毒力强弱有关，另一方面取决于宿主免疫力的高低。因机体绝不是像装有培养基的器皿，可以允许致病菌任意繁殖。一般是细菌毒力愈强，引起感染所需的菌量愈小；反之则菌量需大。例如毒力强大的鼠疫耶氏菌，在无特异性免疫力的机体中，有数个菌侵入就可发生感染；而毒力弱的某些引起食物中毒的沙门菌，常需摄入数亿个菌才引起急性胃肠炎。

三、细菌侵入的部位

有了一定的毒力物质和足够数量的致病菌，若侵入易感机体的部位不适宜，仍是不能引起感染。例如伤寒沙门菌必须经口进入；脑膜炎奈瑟菌应通过呼吸道吸入；破伤风梭菌的芽胞进入深部创伤，在厌氧环境中才能发芽等。也有一些致病菌的合适侵入部位不止一个，例如结核分枝杆菌，呼吸道、消化道、皮肤创伤等部位都可以造成感染。各种致病菌都有其特定的侵入部位，这与致病菌需要特定的生长繁殖的微环境有关。

第三节　宿主的免疫防御机制

人体内存在着较完善的免疫系统。该系统由免疫器官（骨髓、胸腺、脾、淋巴结、

扁桃体、小肠集合淋巴结、阑尾和粘膜免疫系统等）、免疫细胞（淋巴细胞、单核吞噬细胞、中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、血小板等），以及免疫分子（补体，免疫球蛋白、细胞因子等）组成。在感染和免疫过程中，各免疫器官、组织、细胞和免疫分子间互相协作、互相制约、密切配合，共同完成复杂的免疫防御功能。

致病菌侵入人体后，首先遇到的是天然免疫功能的抵御。一般经7～10d后，产生了获得性免疫；然后两者配合，共同杀灭致病菌。

一、天 然 免 疫

天然免疫（innate immunity）是人类在长期的种系发育和进化过程中，逐渐建立起来的一系列防御致病菌等抗原的功能。其特点是：①作用范围比较广泛，不是针对某一特定致病菌，故也称非特异性免疫（nonspecific immunity）；②同种系不同个体都有，代代遗传，较为稳定；③个体出生时就具备、应答迅速，担负“第一道防线”作用；④再次接触相同致病菌，其功能不会增减。

天然免疫主要由组织屏障和某些免疫细胞、免疫分子等组成。

屏障结构

1．皮肤与粘膜

(1) 机械性阻挡与排除作用：人体与外界环境接触的表面，复盖着一层完整的皮肤和粘膜结构。皮肤由多层扁平细胞组成，能阻挡致病菌的穿透，只有当皮肤损伤时细菌才能侵入。粘膜仅有单层柱状细胞，其机械性防御作用不如皮肤，但粘膜有多种附件和分泌液。例如呼吸道粘膜上皮细胞的纤毛运动，口腔唾液的吞咽和肠蠕动等，可将停留的致病菌排出体外。当机体受寒冷或有害气体等刺激，粘膜屏障有缺损时，就易患气管炎、支气管炎和肺炎等疾患。

(2) 分泌杀菌物质：皮肤和粘膜分泌多种杀菌物质。例如皮肤的汗腺分泌乳酸使汗液呈酸性（pH5.2～5.8），不利于细菌的生长。皮脂腺分泌的脂肪酸，有杀细菌和真菌作用。不同部位的粘膜能分泌溶菌酶、胃酸、蛋白酶等多种杀菌物质。

(3) 正常菌群的拮抗作用：例如口腔中唾液链球菌产生的H_2O_2，能杀死脑膜炎奈瑟菌和白喉棒状杆菌；肠道中大肠埃希菌的大肠菌素（colicin）和酸性产物，能抑制志贺菌、金黄色葡萄球菌、白假丝酵母菌等；咽喉部甲型溶血性链球菌能抑制肺炎链球菌的生长等。

2．血脑屏障　一般认为血脑屏障由软脑膜、脉络丛、脑血管和星状胶质细胞等组成。主要藉脑毛细血管内皮细胞层的紧密连接和微弱的吞饮作用来阻挡细菌、病毒等微生物及其毒性产物从血流进入脑组织或脑脊液，以此保护中枢神经系统。婴幼儿的血脑屏障发育尚未完善，故易发生脑膜炎、脑炎等病症。

3．胎盘屏障　由母体子宫内膜的基蜕膜和胎儿绒毛膜组成。正常情况下，母体感染时的病原体及其有害产物不能通过胎盘屏障进入胎儿。但若在妊娠3个月内，因胎盘屏障尚不完善，母体中的病原体有可能经胎盘侵犯胎儿，干扰其正常发育，造成畸形甚

至死亡。药物影响亦然。因此，在怀孕期间尤其是早期，应尽量防止发生感染并尽可能不用或少用副作用大的药物。

吞噬细胞 人类吞噬细胞分大、小两类。小吞噬细胞是外周血中的中性粒细胞，大吞噬细胞是血中的单核细胞和各种组织中的巨噬细胞。中性粒细胞在血流中仅存留10h左右后即进入组织，其活动期不长，一般寿命仅1～3d。单核细胞在血流中存留2～3d后进入组织，在组织中进一步分化发育成为游离或固定的巨噬细胞。在不同组织器官中的巨噬细胞常有不同名称，例如在肝内称枯否细胞，肺内称尘细胞，结缔组织内称组织细胞等。血液的单核细胞和组织中的各种巨噬细胞构成单核吞噬细胞系统（mononuclear phagocyte system）。

当致病菌侵入皮肤或粘膜到达体内组织后，中性粒细胞首先从毛细血管中逸出，聚集到致病菌所在部位，多数情况下，致病菌被吞噬消灭。若不被杀死则经淋巴管到附近淋巴结，在淋巴结内的吞噬细胞进一步将之吞噬杀死。淋巴结的这种过滤作用在机体免疫防御功能上占重要地位，一般只有毒力强、数量多的致病菌才有可能不被完全阻挡而侵入血流或其他器官，然后再由血液、肝、脾或骨髓等处的吞噬细胞继续进行吞噬杀灭。

1. 吞噬和杀菌过程 一般分为三个阶段（图6-2）。

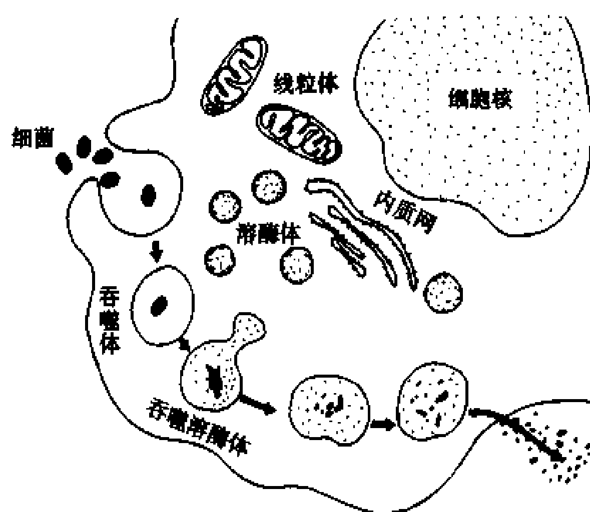


图6-2 吞噬细胞对细菌的吞噬和消化过程示意图

（1）接触：吞噬细胞与致病菌的接触可为偶然相遇，亦可通过一些称为趋化因子的吸引。中性粒细胞可与致病菌的细胞壁组分直接结合；或间接地由革兰阴性菌LPS先与血清中的脂多糖结合蛋白（lipopolysaccharide binding protein，LBP）结合，这LPS—LBP复合物再与中性粒细胞上的CD14分子结合。中性粒细胞也能与由补体替代途径衍生的C3b及其iC3b沉积的致病菌结合。巨噬细胞尚有甘露糖受体、“清道夫”（scavenger receptor）受体等与多种致病菌接触结合。侵入的致病菌，可刺激吞噬细胞、内皮细胞、皮肤角质细胞、成纤维细胞等产生IL-8、NAP-2（neutrophil activating protein-2）、RANTES（regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted）、MIP

(macrophage inflammatory protein) 等趋化因子 (chemokine), 招引中性粒细胞和单核吞噬细胞至炎症部位。

(2) 吞入：吞噬细胞接触致病菌部位的细胞膜内陷，伸出伪足将菌包围并摄入细胞质内，形成由部分胞膜包绕成的吞噬体 (phagosome), 此为吞噬 (phagocytosis)。对于病毒等较小物体，只在其附着处的细胞膜向细胞质内陷形成吞饮体 (pinosome), 将病毒等包裹在内，是为吞饮 (pinocytosis)。

(3) 杀灭：当吞噬体形成后，溶酶体 (lysosome) 与之靠近、接触，并两者融合成吞噬溶酶体 (phagolysome)。溶酶体内的溶菌酶、髓过氧化物酶、乳铁蛋白、防御素 (defensin)、活性氧中介物 (reactive oxygen intermediate, ROI) 和活性氮中介物 (reactive nitrogen intermediate, RNI) 可杀死致病菌，而蛋白酶、多糖酶、核酸酶、脂酶等能将它们降解，最后不能消化的残渣排至吞噬细胞外。

中性粒细胞的胞质中含有两种主要颗粒。一为嗜天青颗粒，内含多种抗菌蛋白和酶，例如溶菌酶、防御素、髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 等；另一为特异颗粒，含有乳铁蛋白、ROI、RNI 等。另有一种称为第三颗粒的，含酸性磷酸酶、明胶酶等，尚未发现有抗菌作用。

人类中性粒细胞的杀菌机制分依氧和非依氧两类。依氧杀菌机制主要因吞噬引起呼吸爆发 (respiratory brust) 而致。ROI 有超氧阴离子 (O_2^-)、单态氧 ($^1O_2$)、游离羟基 (OH^-)、H_2O_2、次氯酸 (HOCl)、单氯胺 (NH_2Cl) 等。RNI 有一氧化氮 (NO)、NO_2^- 和 NO_3^- 等。O_2^- 和 H_2O_2 对细菌有直接毒性作用，$^1O_2$ 和 OH^- 均属作用短暂的强氧化剂，能严重破坏细菌的 DNA、膜脂类和蛋白质。HOCl 和 NH_2Cl 由 MPO 作用于 H_2O_2 和氯化物而形成，两者通过氯化作用破坏菌体蛋白。NO 具有高度抗菌活性，当与 O_2^- 结合后再进一步氧化成 NO_2^- 和 NO_3^-，它们具有更强大的抗细菌以及抗真菌、原虫和蠕虫的作用。参与非依氧杀菌机制的有溶菌酶、防御素、乳铁蛋白、弹性蛋白酶和吞噬溶酶体内的酸性产物等。

未激活的单核-巨噬细胞吞噬和杀菌效应微弱，当被合适的细胞因子激活后，其活性才充分表达。细胞因子中以 IFN-γ 最为重要。不同种系的单核-巨噬细胞，或处于不同成熟阶段，吞噬和杀菌功能可有差异。例如人血液中的单核细胞有 MPO 活性，而组织中的巨噬细胞则无。小鼠单核-巨噬细胞产生 RNI，人类中是否有 RNI 尚无定论。目前认为，人类单核-巨噬细胞的杀菌主要是 H_2O_2 和乳酸等作用。

2. 吞噬作用的后果　致病菌被吞噬细胞吞噬后，其后果随细菌种类、毒力和人体免疫力不同而异。化脓性球菌被吞噬后，一般在 5～10min 死亡，30～60min 被破坏，此为完全吞噬。结核分枝杆菌、布鲁菌、伤寒沙门菌、军团菌等胞内寄生菌，在免疫力缺乏或低下的机体中，虽被吞噬却未被杀死，是为不完全吞噬。不完全吞噬可使这些致病菌在吞噬细胞内得到保护，免受机体体液中非特异抗菌物质、特异抗体或抗菌药物等的作用。有的致病菌甚至能在吞噬细胞内生长繁殖，导致吞噬细胞死亡，或随游走的带菌吞噬细胞经淋巴液或血液扩散到人体其他部位，造成广泛病变。此外，吞噬细胞在吞噬过程中，溶酶体释放出的多种水解酶也能破坏邻近的正常组织细胞，造成组织的免疫病理性损伤。

临床上有一种慢性肉芽肿病 (chronic granulomatous disease, CGD), 多见于男孩，是伴性遗传疾患。该病主要是吞噬细胞的吞噬力正常而杀菌力缺陷或低下，因而反复感

染。常见的病菌有葡萄球菌、大肠埃希菌、变形杆菌、沙雷菌和真菌等。其机制是这些菌都有过氧化氢酶，但缺乏氧化酶，其 MPO 形成就少，故 MPO 的杀菌力大为降低。CGD 中的感染菌很少是肺炎链球菌或 A 群链球菌，原因是这些菌能产生 H_2O_2，以补偿病人吞噬细胞内 H_2O_2 的不足。致使 MPO 形成未减少，其杀菌功能不受影响。临床上可用氮蓝四唑（nitroblue tetrazolium，NBT）试验来测患者中性粒细胞的吞噬杀伤功能，以协助诊断 CGD。

体液因素 正常体液和组织中含有多种杀伤或抑制致病菌的物质，主要有：

1. 补体 是正常血清中的一组蛋白质，由巨噬细胞、肠上皮细胞、肝和脾细胞等产生。补体的经典途径由抗原抗体复合物激发。旁路途径可由革兰阴性菌内毒素、酵母多糖、聚合 IgG、IgA 等活化。补体系统激活后产生的多种生物活性产物，可导致趋化、粘连、促进吞噬、引发炎症等反应，有增强抗感染作用。

由于补体旁路途径的活化在特异性抗体形成之前就发挥防御作用，故是一种重要的抗某些致病菌感染的天然免疫机制。

2. 溶菌酶 溶菌酶（lysozyme）主要来源于吞噬细胞，广泛分布于血清、唾液、泪液、鼻涕等中。作用于革兰阳性菌的胞壁肽聚糖，使之裂解而溶菌。因革兰阴性菌的肽聚糖外尚有脂蛋白等层包围，若同时存在有相应抗体等，则溶菌酶也可破坏革兰阴性菌。否则，单独溶菌酶对革兰阴性菌无效。

3. 防御素 防御素主要存在于中性粒细胞的嗜天青颗粒中，人的肠细胞中亦有。是一类富含精氨酸的小分子多肽，目前已发现人防御素有 4 种（HNP1～4）。防御素主要杀胞外菌，但 HNP1～3 对偶发分枝杆菌和鸟-胞内分枝杆菌等胞内菌亦有一定杀伤作用。防御素的杀菌机制有 3 个阶段：①防御素分子被敏感菌细胞膜表面的静电吸引，使两者接触；②在电势影响下，单体或双体的防御素分子可进入带电的菌细胞膜，破坏其完整性，形成受电势调节的孔洞；③细菌细胞膜发生不可逆损伤，胞内外物质交换失控，细菌死亡。

正常体液中尚有乙型溶素、吞噬细胞杀菌素、组蛋白、白细胞素、乳素、正常调理素等杀菌或抑菌物质。

二、获得性免疫机制

获得性免疫（acquired immunity）是个体出生后，在生活过程中与致病菌及其毒性代谢产物等抗原分子接触后产生的一系列免疫防御功能。其特点是：①针对性强，只对引发免疫力的相同抗原有作用，对它种抗原无效，故也称特异性免疫（specific immunity）；②不能遗传给后代，需个体自身接触抗原后形成，因此产生获得性免疫需一定时间，一般是 10～14d；③再次接触相同抗原，其免疫强度可增加。

获得性免疫包括体液免疫和细胞免疫两大类。体液免疫是指由特异抗体起主要作用的免疫应答。当机体 B 细胞受某些致病菌和（或）其毒性产物刺激后，一般在巨噬细胞、CD4 Th2 细胞辅助下，分化、增殖为浆细胞。随抗原性质、进入途径、应答过程等不同，浆细胞可合成和分泌 IgG、IgM、IgA、IgD 和 IgE 五类免疫球蛋白抗体。根据

它们在抗菌免疫中的作用，可分为抗菌抗体（调理素）和抗外毒素抗体（抗毒素）。

细胞免疫是以T细胞为主的免疫应答。当T细胞与某些致病菌接触后，分化增殖为致敏或免疫T细胞。其中主要是CD4 Th1细胞和细胞毒性T细胞（cytotoxic T cell, CTL, Tc）。CD4 Th1细胞产生系列细胞因子，能活化巨噬细胞、引发速发型超敏反应和激活CTL等。

根据致病菌与宿主细胞的关系，可分为胞外菌（extracellular bacteria）和胞内菌（intracellular bacteria）。胞外菌寄居在宿主细胞外的组织间隙和血液、淋巴液、组织液等体液中。胞内菌又分兼性（facultative）和专性（obligate）两类，兼性胞内菌在宿主体内，主要寄居在细胞内生长繁殖；在体外，亦可在无活细胞的适宜环境中生存和繁殖。专性胞内菌则不论在宿主体内或体外，都只能在活细胞内生长繁殖。

胞外菌感染的免疫 人类的多数致病菌属胞外菌，主要有葡萄球菌、链球菌、脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、志贺菌、霍乱弧菌、白喉棒状杆菌、破伤风梭菌等。

胞外菌的致病机制主要有二：①产生外毒素、内毒素等毒性物质；②引起炎症反应。

入侵的胞外菌，主要由中性粒细胞吞噬、消灭。

特异性体液免疫是抗胞外菌感染的主要获得性免疫机制。胞外菌的胞壁和荚膜等多糖是T细胞非依赖抗原（TI-Ag），能直接激发相应B细胞产生IgM抗体应答。胞外菌大多蛋白抗原是T细胞依赖的（TD-Ag），需抗原递呈细胞（APC）和CD4 Th2细胞的辅助。产生的抗体类型先是IgM，后转换为IgG为主，并有IgA或IgE。

特异抗体的作用有：①IgG抗体调理细菌促进吞噬。IgG与中性粒细胞、巨噬细胞的结合是通过这些吞噬细胞上的Fcγ受体。IgM和IgG抗体与抗原结合后均可活化补体系统，产生C3b和iC3b，它们分别与吞噬细胞上的CR1和CR3结合而进一步促进吞噬作用。②抗体中和细菌外毒素。外毒素与其特异抗毒素抗体结合后形成免疫复合物，这种无毒复合物最终为吞噬细胞吞噬清除。③分泌型IgA（SIgA）阻挡致病菌定植。SIgA抗体存在于多种分泌液中，例如胃肠道、呼吸道的SIgA可防止相应致病菌在其粘膜表面定植；乳汁中的SIgA可将母体有关抗体传递给乳儿等。④IgM、IgG抗体与抗原的复合物可激活补体经典途径，终末攻膜复合体MAC有杀菌效应，奈瑟菌对之最敏感；补体激活过程中的C3a、C5a等产物能介导急性炎症反应。

参与胞外菌免疫应答的T细胞主要是CD4 Th2细胞。它们除辅助B细胞对TD-Ag产生抗体外，尚能产生多种细胞因子，引起局部炎症，促进巨噬细胞的吞噬和杀伤，招引和活化中性粒细胞等。

具有超抗原特性的葡萄球菌肠毒素、链球菌的致热外毒素等，在感染早期形成少量时，就可激活相应的TCRVβ的CD4T细胞产生足量细胞因子，利于对病菌的清除。若菌量大、超抗原性毒素多，则过量的细胞因子可对机体造成严重危害，甚至死亡。超抗原性外毒素和细菌内毒素都是多克隆淋巴细胞激活剂，若激活的淋巴细胞中有针对自身抗原的克隆，有可能导致自身免疫病。有些胞外菌与人体某些组织、细胞存在着交叉抗原，这些病菌诱生的抗体有可能与这些组织、细胞发生超敏反应而致病。最具代表性的

疾病是 A 群链球菌感染后的风湿热和肾小球肾炎。

胞外菌可以通过不同机制来逃避机体的免疫杀伤。例如肺炎链球菌等在胞壁外形成抗吞噬的荚膜；淋病奈瑟菌的菌毛不断发生突变，使原有抗菌毛抗体失效；流感嗜血杆菌等产生 IgA 蛋白酶。降解宿主粘膜表面的 SIgA 抗体；福氏志贺菌能诱导巨噬细胞凋亡；铜绿假单胞菌分泌弹性蛋白酶灭活 C3a、C5a 等。

胞内菌感染的免疫 对医学重要的兼性胞内菌有结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌、伤寒沙门菌、布鲁菌、嗜肺军团菌、产单核细胞李氏菌等。立克次体、柯克斯体、衣原体等属于专性胞内菌。

胞内菌感染的特点除细胞内寄生外，尚有低细胞毒性，呈慢性过程，主要通过病理性免疫损伤而致病等。胞内菌的毒力低，利于病菌和宿主细胞长期共存，否则宿主细胞快速死亡就使胞内菌失去赖以生存的微环境。由于胞内菌毒力低，其感染的潜伏期较长、病程缓慢；因而持续的刺激形成了胞内菌常有的肉芽肿病变特征。肉芽肿既有阻挡病菌扩散的作用，亦对宿主局部造成一定的病理损伤。

胞内菌感染的获得性免疫机制主要是以 T 细胞为主的细胞免疫，因特异性抗体不能进入胞内菌寄居的宿主细胞内与之作用。特异性细胞免疫应答包括两种类型，一为 CD4 Th1 细胞衍生的细胞因子；另一为 CD8 CTL。CD4 Th1 细胞可产生众多细胞因子，其中的 IFN-γ 是巨噬细胞最强激活剂，使其吞噬胞内菌和杀伤力大为增加。CD4 Th1 细胞衍生的细胞因子尚能活化 CTL 和引起迟发型超敏反应，有利于对胞内菌的清除。CD8 CTL 能直接将穿孔素（perforin）和粒酶（granulozyme）介入胞内菌感染细胞，破坏其完整性，使病菌散出，再由抗体等调理后由吞噬细胞吞噬消灭。

胞内菌逃避机体的免疫杀伤机制有多种：例如嗜肺军团菌等通过 CR1/CR3 结合但不引起呼吸爆发的安全途径进入宿主细胞的，免受因呼吸爆发产生的 ROI 等强氧化物质的杀伤；结核分枝杆菌、伤寒沙门菌等阻止吞噬体与溶酶体的融合；产单核细胞李氏菌等能逸入无杀伤物质存在的吞噬细胞胞质内；麻风分枝杆菌等以无杀伤力的非职业吞噬细胞如神经鞘细胞等为寄居细胞等。

第四节　感染的发生与发展

一、感染的来源

感染来源于宿主体外的称外源性感染（exogenous infection）；若来自患者自身体内或体表的称为内源性感染（endogenous infection）。

外源性感染

1．病人　大多数人类感染是通过人与人之间的传播。病人在疾病潜伏期一直到病后一段恢复期内，都有可能将致病菌传播给周围他人。对患者及早作出诊断并采取防治措施，是控制和消灭传染病的根本措施之一。

2．带菌者　有些健康人携带有某种致病菌但不产生临床症状，也有些传染病患者

恢复后在一段时间内仍继续排菌。这些健康带菌者和恢复期带菌者是很重要的传染源，因其不出现临床症状，不易被人们察觉，故危害性甚于病人。脑膜炎奈瑟菌、白喉棒状杆菌常有健康带菌者，伤寒沙门菌、志贺菌等可有恢复期带菌者。

3. 病畜和带菌动物　有些细菌是人畜共患病的致病菌，因而病畜或带菌动物的致病菌也可传播给人类。例如鼠疫耶氏菌、炭疽芽胞杆菌、布鲁菌、牛分枝杆菌，以及引起食物中毒的沙门菌等。

内源性感染　这类感染的致病菌大多是体内的正常菌群，少数是以隐伏状态存在于体内的致病菌。正常菌群在特定条件下成为条件性致病菌后再致病。

二、传播方式与途径

呼吸道感染　致病菌从病人或带菌者的痰液、唾沫等散布到周围空气中，经呼吸道途径感染他人。例如咳嗽、喷嚏、大声说话时喷出的飞沫，含有大量细菌。此外，亦可通过吸入沾有病菌的尘埃而引起。呼吸道感染的疾病有肺结核、白喉、百日咳、军团病等。

消化道感染　伤寒、菌痢、霍乱、食物中毒等胃肠道传染病，大多是摄入粪污染的饮食物所致。水、手指和苍蝇等昆虫是消化道传染病传播的重要媒介。

创伤感染　皮肤、粘膜的细小破损，致病性葡萄球菌、链球菌等常可侵入引起化脓性感染。泥土、人类和动物粪便中，可有破伤风梭菌、产气荚膜梭菌等芽胞存在。这些芽胞若进入深部伤口，微环境适宜时就会发芽、繁殖，产生外毒素而致病。

接触感染　淋病奈瑟菌、苍白密螺旋体、麻风分枝杆菌、钩端螺旋体等，可通过人-人或动物-人的密切接触而感染。其方式可为直接接触，或通过用具等间接受染。

节肢动物叮咬感染　有些传染病是通过吸血昆虫传播的。例如人类鼠疫由鼠蚤传播，恙虫病由恙螨幼虫传播等。

多途径感染　有些致病菌的传播可有呼吸道、消化道、皮肤创伤等多种途径。例如结核分枝杆菌、炭疽芽胞杆菌等。

三、感染的类型

感染的发生、发展和结局是宿主体和致病菌相互作用的复杂过程。根据两者力量对比，感染类型可以出现不感染、隐性感染（inapparent infection）、潜伏感染（latent infection）、显性感染（apparent infection）和带菌状态（carrier state）等不同临床表现。这几种类型并非一成不变，随着两方力量的增减，可以移行、转化或交替出现的动态变化。

不感染　当宿主体具有高度免疫力，或侵入的致病菌毒力很弱或数量不足，或侵入的部位不适宜。则病菌迅速被机体的免疫系统消灭，不发生感染。

隐性感染　当宿主体的抗感染免疫力较强，或侵入的病菌数量不多、毒力较弱，感染后对机体损害较轻，不出现或出现不明显的临床症状，是为隐性感染，或称亚临床感染（subclinical infection）。隐性感染后，机体常可获得足够的特异免疫力，能抗御相同

致病菌的再次感染。在每次传染病流行中，隐性感染者一般约占人群的90%或更多，结核、白喉、伤寒等常有隐性感染。

潜伏感染 当宿主体与致病菌在相互作用过程中暂时处于平衡状态时，病菌潜伏在病灶内或某些特殊组织中，一般不出现在血液、分泌物或排泄物中。一旦机体免疫力下降，则潜伏的致病菌大量繁殖，使病复发。例如结核分枝杆菌有潜伏感染。最典型的潜伏感染病原体是单纯疱疹病毒和水痘-带状疱疹病毒。

显性感染 当宿主体抗感染的免疫力较弱，或侵入的致病菌数量较多、毒力较强，以致机体的组织细胞受到不同程度的损害，生理功能也发生改变，并出现一系列的临床症状和体征，是为显性感染，通称传染病。由于每一病例的宿主体抗病能力和病菌毒力等存在着差异，因此，显性感染又有轻、重、缓、急等不同模式。

临床上按病情缓急不同，分为：

1．急性感染（acute infection） 发作突然，病程较短，一般是数日至数周。病愈后，致病菌从宿主体内消失。急性感染的致病菌有脑膜炎奈瑟菌、霍乱弧菌、肠产毒型大肠埃希菌等。

2．慢性感染（chronic infection） 病程缓慢，常持续数月至数年。胞内菌往往引起慢性感染，例如结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌。

临床上按感染的部位不同，分为：

1．局部感染（local infection） 致病菌侵入宿主体后，局限在一定部位生长繁殖引起病变的一种感染类型。例如化脓性球菌所致的疖、痈等。

2．全身感染（generalized infection；systemic infection） 感染发生后，致病菌或其毒性代谢产物向全身播散引起全身性症状的一种感染类型。临床上常见的有下列几种情况：

（1）毒血症（toxemia）：致病菌侵入宿主体后，只在机体局部生长繁殖，病菌不进入血循环，但其产生的外毒素入血。外毒素经血到达易感的组织和细胞，引起特殊的毒性症状。例如白喉、破伤风等。

（2）内毒素血症（endotoxemia）：革兰阴性菌侵入血流，并在其中大量繁殖、崩解后释放出大量内毒素；也可由病灶内大量革兰阴性菌死亡、释放的内毒素入血所致。在严重革兰阴性菌感染时，常发生内毒素血症。

（3）菌血症（bacteremia）：致病菌由局部侵入血流，但未在血流中生长繁殖，只是短暂的一过性通过血循环到达体内适宜部位后再进行繁殖而致病。例如伤寒早期有菌血症期。

（4）败血症（septicemia）：致病菌侵入血流后，在其中大量繁殖并产生毒性产物，引起全身性中毒症状，例如高热、皮肤和粘膜瘀斑、肝脾肿大等。鼠疫耶氏菌、炭疽芽胞杆菌等可引起败血症。

（5）脓毒血症（pyemia）：指化脓性病菌侵入血流后，在其中大量繁殖，并通过血流扩散至宿主体的其他组织或器官，产生新的化脓性病灶。例如金黄色葡萄球菌的脓毒血症，常导致多发性肝脓肿、皮下脓肿和肾脓肿等。

带菌状态　有时致病菌在显性或隐性感染后并未立即消失，在体内继续留存一定时间，与机体免疫力处于相对平衡状态，是为带菌状态，该宿主称为带菌者（carrier）。例如伤寒、白喉等病后常可出现带菌状态。带菌者经常会间歇排出病菌，成为重要的传染源之一。

四、环境因素对感染的影响

感染的轻重除取决于致病菌和宿主体两方面外，自然因素和社会因素对感染的发生、发展亦有明显影响。

自然因素包括气候、季节、温度、湿度和地理条件等诸方面。例如季节不同，流行的传染病种类就不同。冬季易发生呼吸系统传染病，因寒冷能降低呼吸道粘膜的抵抗力。同时，室内活动较多，门窗经常关闭，空气流动少，也增加与致病菌接触的机会。夏季易发生消化系统传染病，乃因天热需大量饮水，将胃酸稀释，使其杀菌效率降低。又夏季气温高，利于苍蝇等昆虫孳生，增多传播机会。有些传染病有地区性，例如原始森林地区或未开垦地带存在着野生动物或吸血昆虫间流行的人畜（兽）共患传染病，一旦人类进入这些自然疫源地，就有可能传播给人，甚至在人群中造成流行。

社会因素对感染的发生和传染病的流行影响也很大。战争、灾荒、贫困等促使传染病的发生和流行。改善生活和劳动条件，开展防病的卫生运动，则传染病的发病率将逐渐下降，人民的健康水平亦将随之明显提高。

（陆德源）

第7章　细菌感染的检查方法与防治原则

致病菌能引起多种感染和传染病，其诊断除可根据临床症状、体征和一般检验外，采取合适的临床标本进行细菌学和血清学检验，在确诊病因上极为重要。

获得性免疫的产生，可通过患病、隐性感染、预防接种、注射抗毒素等方式（表7-1）。

表7-1　获得性免疫的产生方式

主动免疫	自然主动免疫：患病、隐性感染
	人工主动免疫：接种疫苗、类毒素等
被动免疫	自然被动免疫：通过胎盘、初乳
	人工被动免疫：注射抗毒素、丙种球蛋白、转移因子等

人工免疫是采用人工方法，将疫苗、类毒素等或含有某种特异性抗体、细胞免疫制剂等接种于人体，以增强宿主体的抗病能力。用于人工免疫的免疫原（疫苗、类毒素等）、免疫血清、细胞制剂，以及诊断制剂（结核菌素、诊断血清、诊断菌液等）的生物性制剂统称为生物制品（bioproduct）。

第一节　细菌学诊断

标本采集与送检过程是否符合下列几个原则，将直接影响到致病菌检出的成败。

1. 采取标本时应注意无菌操作，尽量避免杂菌污染。

2. 根据致病菌在患者不同病期的体内分布和排出部位，采取不同标本。例如流行性脑膜炎病人取脑脊液、血液或出血瘀斑；伤寒病人在病程1～2周内取血液，2～3周时取粪便。

3. 采集标本应在使用抗菌药物之前，否则这种标本在分离培养时要加入药物拮抗剂。使用青霉素的加青霉素酶、磺胺药的加对氨苯甲酸。又采取局部病变标本处，不可用消毒剂，必要时宜以无菌生理盐水冲洗，拭干后再取材。

4. 尽可能采集病变明显部位的材料。例如菌痢患者取其沾有脓血或粘液的粪便，肺结核病人取其干酪样痰液等。

5. 标本必须新鲜，采集后尽快送检。

6. 送检过程中，除不耐寒冷的脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌等要保暖外，多数菌可冷藏送运。粪便标本中含杂菌多，常置于甘油缓冲盐水保存液中。

致病菌的检验程序

主要有直接涂片镜检、分离培养、生化试验、血清学等试验等。有的尚需作动物试验、药物敏感试验等。近年来发展的细菌学快速检验技术尚有气相色谱、核酸杂交和多聚酶链反应（polymerase chain reaction，PCR）等技术。

直接涂片检查 凡在形态和染色性上具有特征的致病菌，直接涂片染色后镜检有助于初步诊断。例如痰中查见抗酸性细长杆菌，脓液中发现革兰阳性葡萄串状球菌，或咽喉假膜中有异染颗粒的棒状杆菌时，可分别初步诊断为结核分枝杆菌、葡萄球菌或白喉棒状杆菌。在某些情况下，也可在直接涂片后，以特异性荧光抗体染色在荧光显微镜下观察，若出现有发荧光的菌体就是欲检验的细菌。例如粪便中的志贺菌、霍乱弧菌等可用此技术快速检出。

分离培养 原则上所有标本均应作分离培养，以获得纯培养后进一步鉴定。原为无菌部位采取的血液、脑脊液等标本，可直接接种至营养丰富的液体或固体培养基。从正常菌群存在部位采取的标本，应接种至选择或鉴别培养基。接种后放37℃孵育，一般经16～20h大多可生长茂盛或形成菌落。少数如布鲁菌、结核分枝杆菌生长缓慢，分别需经3～4周和4～8周才长成可见菌落。分离培养的阳性率要比直接涂片镜检高，但需时较久。因此，遇白喉等急性传染病时，可根据病人临床表现和直接涂片镜检结果作出初步诊断并及时治疗；不必等待培养报告，以免贻误治疗时间。

生化试验 细菌的代谢活动依靠系列酶的催化作用，不同致病菌具有不同的酶系，故其代谢产物不尽相同，藉此可对一些致病菌进行鉴别。例如肠道杆菌种类很多，形态、染色性基本相同，菌落亦类似。但它们的糖类和蛋白质的分解产物不完全一样，因而可利用不同基质进行生化试验予以区别之。现已有多种微量、快速、半自动或自动的细菌生化反应试剂条（板）和检测仪器研制成功，并有商品供应。

血清学试验 采用含有已知特异抗体的免疫血清与分离培养出的未知纯种细菌进行血清学试验，可以确定致病菌的种或型。常用方法是玻片凝集试验，在数分钟内就能得出结果。免疫荧光、协同凝集、对流免疫电泳、酶免疫、间接血凝、乳胶凝集等试验可快速、灵敏地检测标本中的微量致病菌特异抗原。这些方法的另一优点是即使患者已用抗生素等药物治疗，标本中的病菌被抑制或杀死培养不成功时，其特异抗原仍可检出，有助于确定病因。

动物试验 主要用于分离、鉴定致病菌，测定菌株产毒性等。常用实验动物有小鼠、豚鼠和家兔等。应按实验要求，选用一定的体重和年龄，具有高度易感性的健康动物。接种途径有皮内、皮下、腹腔、肌肉、静脉、脑内和灌胃等。接种后应仔细观察动物的食量、精神状态和局部变化，有时尚要测定体重、体温和血液等指标。若死亡应立即解剖，检查病变，或进一步作分离培养，证实由何病菌所致。含杂菌多的标本，也可通过接种易感动物获得纯培养，达到分离致病菌的目的，例如将疑患肺炎链球菌性肺炎病人痰接种至小鼠腹腔。测试细菌的产毒性，可用家兔或豚鼠皮肤检测白喉棒状杆菌是否产生白喉毒素；家兔结扎肠段测定大肠埃希菌不耐热肠毒素等。目前，多数细菌的外

毒素可用 ELISA 法测定；志贺毒素等可用 Vero 细胞等测定其毒性。又细菌热原质过去用家兔来检测，现已为鲎（limulus）试验替代。

药物敏感试验 药敏试验对指导临床选择用药，及时控制感染有重要意义。方法有纸碟法、小杯法、凹孔法和试管法等，以单片纸碟法和试管稀释法常用。纸碟法是根据抑菌圈有无、大小来判定试验菌对该抗菌药物耐药或敏感。试管法是以抗菌药物的最高稀释度仍能抑制细菌生长管为终点，该管含药浓度即为试验菌株的敏感度。

分子生物学技术 近年来应用核酸杂交和 PCR 技术检测致病微生物核酸是临床诊断学的重大发展。

1. 核酸杂交技术 原理是应用放射性核素或生物素、地高辛、辣根过氧化物酶等非放射性物质标记的已知序列核酸单链作为探针，在一定条件下，按照碱基互补原则与待测标本的核酸单链退火形成双链杂交体。然后，通过杂交信号的检测，鉴定血清、尿、粪或活检组织等中有无相应的病原体基因及其分子大小。

核酸杂交技术有液相与固相之分。固相核酸杂交较常用，有原位杂交、斑点杂交、Southern 印迹、Northern 印迹等。核酸杂交可从标本中直接检出病原体，不受标本中的杂质干扰，对尚不能或难分离培养的病原体尤为适用。用核酸杂交技术来检测细菌感染中的致病菌，有结核分枝杆菌、幽门螺杆菌、空肠弯曲菌、致病性大肠埃希菌等。

2. PCR 技术 是一种无细胞的分子克隆技术，能在体外经数小时的处理即可扩增成上百万个同一基因分子。PCR 技术的基本步骤为从标本中提取 DNA 作为扩增模板；选用一对特异寡核苷酸作为引物，经不同温度的变性、退火、延伸等使之扩增；扩增产物作溴乙锭染色的凝胶电泳，紫外线灯下观察特定碱基对数的 DNA 片段；出现橙红色电泳条带者为阳性。若需进一步鉴定，可将凝胶中分离的 PCR 产物回收，再用特异探针确定。

PCR 技术具有快速、灵敏和特异性强等特点，现已用于生物医学中的多个领域。在细菌学方面，可用 PCR 技术检测标本中的结核分枝杆菌、淋病奈瑟菌、肠产毒素型大肠埃希菌、军团菌等中的特异性 DNA 片段。

其他 有用气液相色谱法检测细菌在代谢过程中产生的挥发性脂肪酸谱，来诊断厌氧菌感染；葡萄球菌、伤寒沙门菌、志贺菌等可用型特异噬菌体进行分型，以追踪传染源；细菌素分型，以及质粒指纹图谱分析（plamid fingerprinting）等，主要用于流行病学调查。

第二节 血清学诊断

人体受致病菌感染后，其免疫系统被刺激后发生免疫应答而产生特异性抗体。抗体的量常随感染过程而增多，表现为效价（titer）或称滴度的升高。因此，用已知的细菌或其特异性抗原检测患者体液中有无相应特异抗体和其效价的动态变化，可作为某些传染病的辅助诊断。一般采取病人的血清进行试验，故这类方法通常称为血清学诊断（serological diagnosis)。血清学诊断主要适用于抗原性较强的致病菌和病程较长的感染

性疾病。

机体血清中出现某种抗体，除患与该抗体相应的疾病外，亦可因曾受该菌隐性感染或近期预防接种所致。因此必须有抗体效价明显高于正常人的水平或随病程递增才有诊断价值。血清学诊断试验最好取患者急性期和恢复期双份血清标本，当后者的抗体效价比前者升高≥4倍者方有意义。若病人在疾病早期即用抗菌药物，病菌在体内繁殖不多，抗体增长可以不明显。所以，细菌学检查和血清学诊断两者在细菌感染的确立方面是互为辅助的。

常用于细菌性感染的血清学诊断种类有直接凝集试验（伤寒、副伤寒的肥达试验，立克次体的外斐试验等，钩端螺旋体病的显微镜凝集试验等）；乳胶凝集试验（检测脑膜炎奈瑟菌、流感嗜血杆菌等抗体）；沉淀试验（梅毒的VDRL、RPR试验等）；补体结合试验（检测Q热柯克斯体等抗体）；中和试验（风湿病的抗O试验等）和ELISA等。ELISA技术已广泛使用于多种病原体特异性抗体的检测。由于其特异、灵敏、快速，且可自动化检测大量标本，有逐渐替代其他血清学诊断方法之势。

第三节　人工主动免疫

人工主动免疫（artificial active immunity）是将疫苗（vaccine）或类毒素接种于人体，使机体产生获得性免疫力的一种防治微生物感染的措施，主要用于预防。

死疫苗　选用免疫原性强的细菌，经人工大量培养后，用理化方法杀死而成。常用的有伤寒、霍乱、百日咳、流行性脑膜炎、钩端螺旋体病、斑疹伤寒等。死疫苗的优点是易于保存，一般4℃ 1年左右。缺点是接种剂量大，注射的局部和全身性副反应较大，且需接种多次。为减少接种手续，可将不同种类的死疫苗适当混合组成联合疫苗，例如伤寒和副伤寒甲、乙混合的三联疫苗，多个型别钩端螺旋体组成的多价钩端螺旋体疫苗等。

活疫苗　用减毒或无毒力的活病原体制成。活疫苗的菌株可以从自然界发掘，或通过人工培育筛选。前者有鼠疫耶氏菌低毒株，后者如牛分枝杆菌在人工培养基上经13年230次移种后获得的卡介苗（BCG）。活疫苗接种后，减毒或无毒菌仍可在宿主体内有一定的生长繁殖，犹如轻型或隐性感染。一般只需接种一次，剂量较小，副反应轻微或无；而免疫效果优于死疫苗，因能同时产生细胞免疫和体液免疫两种应答，而死疫苗只产生体液免疫应答；且免疫较持久。活疫苗若以自然感染途径接种，尚有SIgA抗体的局部粘膜免疫形成。活疫苗的缺点是需冷藏保存，且保存期短，但此不足可用冻干法改进剂型来克服。

类毒素　细菌外毒素经0.3%～0.4%甲醛液作用3～4周后，毒性消失但仍保持免疫原性。这种类毒素中加入适量磷酸铝或氢氧化铝等吸附型佐剂，就成为精致吸附类毒素。它们在机体内吸收缓慢、能较长时间刺激机体以增强免疫效果。常用的有白喉、破伤风等类毒素。儿童用的白百破三联疫苗是将百日咳鲍特菌与白喉、破伤风两种类毒素混合而成。优点是不仅可减少接种次数，且百日咳鲍特菌尚有佐剂作用，能增强白喉和

破伤风类毒素的免疫效果。

亚单位疫苗 根据细菌抗原分析，查明不同致病菌的主要保护性免疫原存在的组分，然后将之制成的疫苗称为亚单位疫苗。例如肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌、流感嗜血杆菌是荚膜多糖,钩端螺旋体是外膜蛋白等。然后采用化学方法将这些免疫原物质予以抽取、纯化;亦可通过基因工程生产。荚膜多糖疫苗的免疫原性较弱,需加用佐剂;亦可与破伤风类毒素等结合成偶联疫苗(conjugated vaccine),以增强多糖免疫原的应答反应。

DNA重组疫苗 通过DNA重组技术制备所需的疫苗。例如福氏志贺菌2a株与大肠埃希菌MH株的杂交株疫苗，带有宋内志贺菌表面抗原质粒的伤寒沙门菌Ty21a重组疫苗等。

核酸疫苗 或称DNA疫苗、基因疫苗，是将能编码引起保护性免疫应答的病原体免疫原基因片段和质粒载体直接注射入宿主体以表达目的免疫原，进而诱出保护性体液抗体和以特异性CTL为代表的保护性细胞免疫的新型疫苗。自1993年初次报道流感病毒核酸疫苗以来，已在多种细菌、病毒、原虫等病原体中研制核酸疫苗，并均获得可喜结果。因此，核酸疫苗的问世被誉为疫苗学中的一次革命。核酸疫苗具有外源基因直接在宿主体细胞内完成表达和后加工，能完整的保留产物的天然结构和免疫原性；能同时诱生机体的体液免疫和细胞免疫；若选择目的基因合适，可诱发异源性保护免疫；可大量制备，且成本低廉等优点。目前，学者们对核酸疫苗的确切作用机制，以及接种人体的安全性等问题正在继续深入研究之中。

治疗性疫苗 近年许多临床试验表明，相应的病原体疫苗对结核病、单纯疱疹、乙型肝炎、利什曼病等慢性复发性感染患者可增强其免疫应答，显示不同程度的疗效。这主要是疫苗可与药物起协同作用，促进患者的康复。当今，有不少研究机构和生产单位正从事这一新领域的开拓性研究。

第四节 人工被动免疫

当宿主体已受感染，采用人工主动免疫已为时过晚，此时宜行人工被动免疫（artificial passive immunization)。人工被动免疫是注射含有特异性抗体的免疫血清或纯化免疫球蛋白抗体，或细胞因子等细胞免疫制剂，使机体即刻获得特异性免疫，因而作用及时。但这些免疫物质不是病人自己产生，故维持时间短。人工被动免疫主要用于治疗或紧急预防（表7-2)。

表7-2 两种人工免疫的比较

区别要点	人工主动免疫	人工被动免疫
免疫物质	抗原	抗体或细胞因子等
免疫出现时间	慢，2～4周	快，立即
免疫维持时间	长，数月～数年	短，2～3周
主要用途	预防	治疗或紧急预防

抗毒素 一般用细菌类毒素或外毒素多次免疫马匹，待马匹产生高效价抗毒素后采血，分离出血清，提取其免疫球蛋白精制成抗毒素制剂。抗毒素能中和相应外毒素。目前我国的白喉和破伤风的抗毒素均用马来制造，因而使用这种异种抗毒素时应注意Ⅰ型超敏反应问题。

抗菌血清 过去曾用于治疗的抗菌血清有抗肺炎链球菌、鼠疫耶氏菌、炭疽芽胞杆菌、百日咳鲍特菌等免疫血清。自磺胺药和抗生素等抗菌药物问世后，因抗菌血清制备较繁、菌型又复杂，以及异种血清可能引起超敏反应等，目前已基本淘汰。只是某些多重耐药菌，例如铜绿假单胞菌感染时，仍可考虑抗菌血清治疗。

胎盘球蛋白、丙种球蛋白 胎盘球蛋白是从健康产妇的胎盘和婴儿脐带血中提制而成，主要含有丙种球蛋白。从胎盘球蛋白提出的丙种球蛋白，称为胎盘丙种球蛋白；若从正常成人血清中提取的称为人血清丙种球蛋白。因大多成人经历常见消化道和呼吸道传播致病菌的隐性感染，有的曾患过某些传染病，故其血清（或胎盘）中可含有多种病原体抗体。这种制剂源自人血清球蛋白，对病人虽有同种抗原问题存在，但由于免疫原性较弱，一般不会发生超敏反应。胎盘球蛋白主要用于麻疹、甲型肝炎、脊髓灰质炎等病毒性疾病的紧急预防，也可治疗丙种球蛋白缺乏症患者以预防常见致病菌的感染。因这类制剂不是专门制备针对某一特定病原体的特异抗体，故其免疫效果不如高效价的特异免疫球蛋白抗体。

细胞免疫制剂 参与细胞免疫的有关细胞和细胞因子较多，相互间的调控关系复杂。因此，细胞免疫制剂在抗菌感染免疫中的应用不多；而主要试用于一些病毒性疾病和肿瘤中，例如转移因子（transfer factor，TF）、干扰素、IL-2、LAK 细胞（lymphokine-activated cell）等。

（陆德源）

第8章 球　　菌

球菌（coccus）是细菌中的一个大类。对人类有致病性的病原性球菌（pathogenic coccus）主要引起化脓性炎症，故又称为化脓性球菌（pyogenic coccus）。根据革兰染色性的不同，分成革兰阳性和革兰阴性两类。前者有葡萄球菌、链球菌、肺炎链球菌等；后者有脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌等。

第一节　葡萄球菌属

葡萄球菌属（*Staphylococcus*）的细菌是一群革兰阳性球菌，常堆聚成葡萄串状。广泛分布于自然界，例如空气、水、土壤、物品以及人和动物的皮肤及与外界相通的腔道中。大部分是不致病的腐物寄生菌。有些人的皮肤和鼻咽部可带有致病菌株，一般鼻咽部带菌率为20%～50%，医务人员的带菌率可高达70%以上，是医院内交叉感染的重要传染源。葡萄球菌能引起皮肤粘膜、多种组织器官的化脓性炎症，是最常见的化脓性球菌。此外，金黄色葡萄球菌耐药菌株高达90%以上，由该菌所致的败血症或脓毒血症仍占居首位。葡萄球菌有的菌株还可引起食物中毒、烫伤样皮肤综合征、毒性休克综合征等疾病。

一、生物学性状

形态与染色　球形或略呈椭圆形。直径0.5～1.5μm，平均0.8μm。典型的葡萄球菌排列呈葡萄串状，此因在繁殖时向多个平面不规则分裂所致（图8-1）。固体培养基上生长的细菌形态，一般常呈典型排列；在脓汁或液体培养基中生长者，常为双球或短链状。

葡萄球菌无鞭毛，无芽胞，体外培养时一般不形成荚膜。

易被常用的碱性染料着色，革兰染色为阳性。当衰老、死亡或被中性粒细胞吞噬后的菌体常转为革兰阴性。

培养特性　营养要求不高，在普通基础培养基上生长良好；在含有血液或葡萄糖的培养基中，生长更为繁茂。兼性厌氧或需氧。最适生长温度为37℃。最适pH为7.4。

在肉汤培养基中经37℃孵育24h，呈均匀混浊生长，管底稍有沉淀。在普通琼脂平板上孵育24～48h后，形成圆形、隆起、表面光滑、湿润、边缘整齐、不透明的菌落。直径在2mm左右。菌落因种不同而出现金黄色、白色或柠檬色等色素。该色素属胡萝卜素类，脂溶性，故培养基不着染。在血琼脂平板上，有的菌株菌落周围形成明显的全

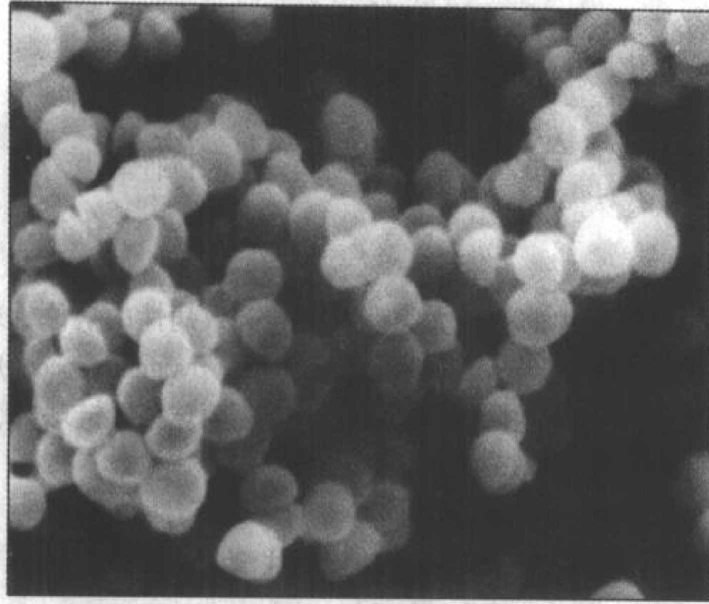


图 8-1 葡萄球菌

（扫描电镜 ×13 500 谢念铭、王济中提供）

透明溶血环（β溶血），溶血菌株大多有致病性。致病性菌株在 20%～30% CO_2 的气体中孵育，产生毒素最佳。

生化反应 触酶阳性。多数菌株能分解葡萄糖、麦芽糖和蔗糖，产酸不产气。致病株能分解甘露醇。

抗原结构 已发现的抗原在 30 种以上，其化学组成和生物学活性了解的仅少数。

1．葡萄球菌 A 蛋白（staphylococcal protein A，SPA） 存在于菌细胞壁的一种表面蛋白。SPA 是一种单链多肽，与胞壁肽聚糖呈共价结合。90% 以上的金黄色葡萄球菌菌株有此抗原，所有人源菌株均有，但不同株间含量相差悬殊。有人推算 Cowan Ⅰ株每个菌表面可有 80000 个 SPA 分子。SPA 可与人类 IgG_1、IgG_2 和 IgG_4 的 Fc 段非特异性结合，亦能同豚鼠、小鼠等多种哺乳动物的 IgG Fc 段结合；而 IgG 分子的 Fab 段仍能同相应抗原分子发生特异性结合。采用含 SPA 的葡萄球菌作为载体，结合特异性抗体后，可开展简易、快速的协同凝集试验（coagglutination），广泛应用于多种微生物抗原的检出。SPA 与 IgG 结合后的复合物具有抗吞噬、促细胞分裂、引起超敏反应、损伤血小板等多种生物学活性。

2．荚膜 宿主体内的大多数金黄色葡萄球菌表面存在着荚膜多糖，有利于细菌粘附到细胞或生物合成材料表面（如生物性瓣膜、导管、人工关节等）。

3．多糖抗原 具有群特异性，存在于细胞壁。A 群多糖抗原从金黄色葡萄球菌中提出，化学组成为磷壁酸中的 N-乙酰葡糖胺核糖醇残基。B 群多糖抗原分离自表皮葡萄球菌，化学组成是磷壁酸中的 N-乙酰葡糖胺甘油残基。

分类 根据 DNA 的相关性程度，葡萄球菌属可分为 32 种。若根据色素、生化反应等不同表型，葡萄球菌可分为金黄色葡萄球菌（*S. aureus*）、表皮葡萄球菌（*S. epidermidis*）和腐生葡萄球菌（*S. sarophyticus*）3 种。其中金黄色葡萄球菌多为致病

菌，表皮葡萄球菌偶可致病，腐生葡萄球菌一般不致病。此外，根据有无凝固酶，也可将葡萄球菌分为凝固酶阳性菌株和凝固酶阴性菌株两大类。过去认为凝固酶阳性株有致病性，阴性株不致病；但近年来发现后者亦可致病。三种葡萄球菌的主要生物学性状见表8-1。

表8-1 三种葡萄球菌的主要性状

性状	金黄色葡萄球菌	表皮葡萄球菌	腐生葡萄球菌
菌落色素	金黄色	白色	白色或柠檬色
凝固酶	+	-	-
葡萄糖	+	+	-
甘露醇	+	-	-
α溶血素	+	-	-
耐热核酸酶	+	-	-
A蛋白	+	-	-
磷壁酸类型	核糖醇型	甘油型	两者兼有
噬菌体分型	多数能	不能	不能
致病性	强	弱	无

凝固酶阳性的葡萄球菌可被相应的噬菌体裂解，目前可分为4个噬菌体群和23个噬菌体型。葡萄球菌肠毒素食物中毒主要由Ⅲ群菌株引起；Ⅱ群菌株耐药性的出现常慢于Ⅰ、Ⅲ群；Ⅰ群中的52、52A、80、81型菌株常是医院中严重败血症的流行株；产生表皮剥脱毒素的主要属于噬菌体Ⅱ群71型菌株。因此，葡萄球菌的噬菌体分型在流行病学调查时追查传染源和研究菌型与疾病类型间的关系均有重要作用。

随着分子生物学技术的发展，出现了DNA分析的遗传学方法。传统的金黄色葡萄球菌的分析方法已逐步被DNA基因型方法取代，如染色体DNA的脉冲电泳分型法、随意引物PCR法等，其特异性比表型分类法更高。

抵抗力 葡萄球菌对外界因素的抵抗力强于其他无芽胞菌。干燥脓汁、痰液中存活2～3月；加热60℃ 1h或80℃ 30min才被杀死；2%石炭酸中15min或1%升汞水中10min死亡；耐盐性强，在含10%～15% NaCl的培养基中仍能生长。同其他革兰阳性菌一样，对碱性染料敏感，例如1:100000～200000的龙胆紫溶液可抑制其生长。近年来由于广泛应用抗生素，耐药菌株迅速增多，尤其是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（methicillin-resistant *S. aureus*，MRSA）已经成为医院内感染最常见的致病菌。

二、致 病 性

致病物质 金黄色葡萄球菌产生的毒素及酶最多，故其毒力最强。表皮葡萄球菌则较少、较弱，一般不致病，在特殊情况下可成为条件致病菌。

葡萄球菌的毒力因子包括：①酶：凝固酶、纤维蛋白溶酶、耐热核酸酶、透明质酸

酶、脂酶等；②毒素：细胞毒素（α、β、γ、δ、杀白细胞素）、表皮剥脱毒素、毒性休克综合征毒素-1、肠毒素等；③其他：粘附素、荚膜、胞壁肽聚糖等。

1. 凝固酶（coagulase） 是能使含有枸橼酸钠或肝素抗凝剂的人或兔血浆发生凝固的酶类物质。致病株大多数能产生，故凝固酶是鉴别葡萄球菌有无致病性的重要指标。

凝固酶有两种：一种是分泌至菌体外的蛋白质称为游离凝固酶（free coagulase）。作用类似凝血酶原物质，被人或兔血浆中的协同因子（cofactor）激活为凝血酶样物质后，使液态的纤维蛋白原变成固态的纤维蛋白，从而血浆凝固。另一种结合于菌体表面并不释放，称为结合凝固酶（bound coagulase）或凝聚因子（clumping factor）。其作用是在该菌株的表面有纤维蛋白原受体，当菌混悬于人或兔血浆时，纤维蛋白原与菌受体交联而使细菌凝聚。游离凝固酶采用试管法检测，结合凝固酶则以玻片法测定。

凝固酶耐热，粗制品加热至100℃经30min或高压灭菌后仍保持部分活性；但易被蛋白酶分解破坏。

凝固酶和葡萄球菌的致病力关系密切。凝固酶阳性株进入机体后，使周围血液或血浆中的纤维蛋白等沉积于菌体表面，阻碍体内吞噬细胞的吞噬；即使被吞，也不易被杀死。同时，凝固酶集聚在细菌四周，亦能保护病菌不受血清中杀菌物质的破坏。葡萄球菌引起的感染易于局限化和形成血栓，也与凝固酶的生成有关。

2. 葡萄球菌溶素（staphylolysin） 致病性葡萄球菌能产生多种溶素，是损伤细胞膜的毒素。按抗原性不同，可分为α、β、γ、δ等，对人类有致病作用的主要是α溶素。

α溶素是一类分子量不均一的蛋白质，分子量21～50kDa。不耐热，65℃30min被破坏。生物学活性较广泛，对多种哺乳动物红细胞有溶血作用，以兔红细胞最敏感，比人红细胞高约100倍。对白细胞、血小板、肝细胞、成纤维细胞、血管平滑肌细胞等均有损伤作用。给兔皮下注射，引起皮肤坏死；静脉注射则导致死亡。

α溶素是一种外毒素，具有良好的抗原性；经甲醛液脱毒后可制成类毒素。

3. 杀白细胞素（leukocidin） 大多致病性葡萄球菌能产生另一种破坏白细胞的毒素称为Panton-Valentine（PV）杀白细胞素。PV杀白细胞素只攻击中性粒细胞和巨噬细胞，其作用部位主要在白细胞的细胞膜。先是细胞膜中三磷酸肌醇发生构型变化，膜穿孔后通透性增高，K^+丢失。表现为白细胞运动能力丧失，胞内颗粒排出，细胞死亡。按PV杀白细胞素在羧甲基纤维素柱上相对移动速度不同，分为快（F）和慢（S）两种组分；当两者各自单独存在时，并无杀伤活性，必须协同才有作用。PV杀白细胞素在抵抗宿主吞噬细胞，增强病菌侵袭力方面有意义。

4. 肠毒素（enterotoxin） 约1/3临床分离的金黄色葡萄球菌可产生肠毒素。按抗原性和等电点不同，分A、B、C_1、C_2、C_3、D、E、G和H 9个血清型，均能引起急性胃肠炎即食物中毒，与产毒菌株污染了牛奶、肉类等食物有关。以A、D型多见，B、C型次之。同一菌株能产生两型或以上的肠毒素，但常以一种类型的毒素为主。产肠毒素的菌株常是凝固酶阳性株，不过耐热核酸酶和肠毒素两者的存在更为平行。

葡萄球菌肠毒素是一组热稳定的单纯蛋白质，分子量26～30kDa。耐热100℃

30min；抵抗胃肠液中蛋白酶的水解作用。

葡萄球菌肠毒素对人的中毒剂量报道不一，一般认为约 1μg/kg。其作用机制可能是到达中枢神经系统后刺激呕吐中枢而导致以呕吐为主要症状的食物中毒。此外它还具有超抗原作用。

5. 表皮剥脱毒素（exfoliative toxin，exfoliatin） 也称表皮溶解毒素（epidemolytic toxin），主要由噬菌体Ⅱ群金黄色葡萄球菌产生。蛋白质性质，分子量 24～33kDa，等电点为 7.0。具有抗原性，可被甲醛液脱毒成类毒素。有两个血清型：A 型耐热，100℃ 20min 不被破坏，40min 始灭活；B 型不耐热，60℃ 30min 即破坏。

表皮剥脱毒素引起的烫伤样皮肤综合征（staphylococcal scalded skin syndrome，SSSS），又称剥脱性皮炎，多见于新生儿、幼儿和免疫功能低下的成人。患者皮肤呈弥漫性红斑和水疱形成，继以表皮上层大片脱落，受损部位的炎症反应轻微。

6. 毒性休克综合征毒素-1（toxic shock syndrome toxin 1，TSST-1） 由噬菌体Ⅰ群金黄色葡萄球菌产生的一类蛋白质。TSST-1 可引起机体发热，增加对内毒素的敏感性。感染产毒菌株后可引起机体多个器官系统的功能紊乱或毒性休克综合征（TSS）。过去TSS多见于使用月经阴道塞的妇女，但近年来发现许多病例与之无关，由TSST-1引起的TSS病例只占75％左右。据此有学者认为TSST-1不是引起TSS的唯一病因，革兰阴性杆菌内毒素、葡萄球菌肠毒素和溶素等与 TSS 的发病也有密切的关系。

TSST-1 的蛋白质密码序列长度为 585 个碱基对（194 个氨基酸），据此推测其分子量为 22049，此与经 SDS-PAGE 测定的 TSST-1 分子量 22000 极为接近。

TSST-1 经木瓜蛋白酶分解，可产生分子量分别为 16.3、12.4 和 9.7kDa 三个片段。前两片段具有血清学和生物学活性，后一片段无活性。

从临床分离的金黄色葡萄球菌菌株，仅 20％左右能产生 TSST-1。遗传学研究表明 TSST-1 基因（tst）位于染色体上。

7. 其他

（1）纤维蛋白溶酶（fibrinolysin）：亦称葡激酶（staphylokinase）。可激活血浆中的纤维蛋白酶原，使之成为纤维蛋白酶，导致血浆纤维蛋白的溶解，利于病菌的扩散。

（2）耐热核酸酶（heat-stable nuclease）：致病性葡萄球菌能产生该酶。耐热，经 100℃ 15min 或 60℃ 2h 不被破坏；能较强的降解 DNA 和 RNA。目前临床上已将耐热核酸酶作为测定葡萄球菌有无致病性的重要指标之一。

（3）透明质酸酶（hyaluronidase）：亦称扩散因子（spreading factor），能溶解细胞间质中的透明质酸，利于细菌的扩散。90％以上的金黄色葡萄球菌能产生该酶。

（4）脂酶（lipase）：绝大多数凝固酶阳性葡萄球菌和约 30％凝固酶阴性株能产生多种脂酶，它们分解血浆和机体各部位表面的脂肪和油类。细菌藉以获得必需营养从而可定植于分泌脂质的部位，故脂酶的产生对细菌入侵皮肤和皮下组织是很重要的。

所致疾病 有侵袭性和毒素性两种类型。

1. 侵袭性疾病 主要引起化脓性炎症。葡萄球菌可通过多种途径侵入机体，导致皮肤或器官的感染，甚至败血症。

（1）局部感染：主要由金黄色葡萄球菌引起的皮肤软组织感染，如疖、痈、毛囊炎、蜂窝组织炎、伤口化脓等。此外还可引起气管炎、肺炎、脓胸、中耳炎等内脏器官感染。

（2）全身感染：如败血症、脓毒血症等，多由金黄色葡萄球菌引起，新生儿或少数免疫功能低下者可由表皮葡萄球菌引起。

2. 毒素性疾病　由葡萄球菌产生的有关外毒素引起。

（1）食物中毒：进食含葡萄球菌肠毒素食物后1～6h出现症状，先有恶心、呕吐、上腹痛，继以腹泻。呕吐最为突出。大多数病人于1～2d内恢复。

（2）假膜性肠炎：正常人肠道内有少数金黄色葡萄球菌寄居。当脆弱类杆菌、大肠埃希菌等优势菌因抗菌药物的应用而被抑制或杀灭后，耐药的葡萄球菌趁机繁殖产生肠毒素，引起以腹泻为主的临床症状。其本质是一种菌群失调性肠炎，病理特点是肠粘膜被一层炎性假膜所覆盖，该假膜系由炎性渗出物、肠粘膜坏死块和细菌组成。

（3）烫伤样皮肤综合征：由表皮剥脱毒素引起。开始皮肤有红斑，1～2d表皮起皱继而出现大疱，最后表皮上层脱落。

（4）毒性休克综合征：主要由TSST-1引起。主要表现为急性高热，低血压、猩红热样皮疹伴脱屑，严重时出现休克，有些病人还出现呕吐、腹泻、肌痛等症状。

凝固酶阴性葡萄球菌

过去认为凝固酶阴性的葡萄球菌（coagulase negative staphylococcus，CNS）不致病，但近年来的临床和实验室检测结果证实CNS已经成为医源性感染的常见病原菌，而且其耐药菌株也日益增多，给临床诊治造成困难，引起了临床微生物学工作者的关注。

凝固酶阴性葡萄球菌除表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌外，还包括人葡萄球菌（*S. huminis*）、溶血葡萄球菌（*S. hemolyticus*）、头葡萄球菌（*S. capitis*）等十余种。此外，某些凝固酶阳性的葡萄球菌在人体免疫功能的作用下或在抗生素的作用下，也可以转变成为CNS或凝固酶弱阳性的葡萄球菌，但在体外放置数天后，又可回复成为凝固酶阳性葡萄球菌。

人类CNS感染中以表皮葡萄球菌的感染最为常见，该菌是人体正常菌群，从皮肤标本检出率达85%～100%，鼻、口腔、咽喉约90%。当机体免疫功能低下或进入非正常寄居部位时，CNS可引起多种感染，其致病机制主要与细菌胞壁外的粘质物和溶血素（β溶血素、δ溶血素）有关，前者在细菌粘附、抗吞噬和抵抗宿主的免疫防御作用中有重要的致病作用。CNS主要引起以下几种感染：

泌尿系感染：为年轻妇女急性膀胱炎的主要致病菌，尿道感染仅次于大肠埃希菌。常见的是表皮葡萄球菌、人葡萄球菌和溶血葡萄球菌。使用器械检查尿道后或原有尿道疾病的老年男性病人亦易发生这类膀胱炎。

细菌性心内膜炎：因心瓣膜修复术而感染，主要为表皮葡萄球菌。

败血症：凝固酶阴性葡萄球菌引起的败血症仅次于大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌，常见的是溶血葡萄球菌和人葡萄球菌。

此外，心脏起搏器安装、置换人工心瓣膜、长期腹膜透析、静脉滴注等亦可造成凝固酶阴性葡萄球菌的感染。目前医院内耐甲氧西林的表皮葡萄球菌感染已成为瓣膜修复术或胸外科手术中的严重问题。

三、免 疫 性

人类对葡萄球菌有一定的天然免疫力。只有当皮肤粘膜受伤后，或患有慢性消耗性疾病如结核、糖尿病、肿瘤等以及其他病原体感染导致宿主免疫力降低时，才易引起葡萄球菌感染。患病恢复后，虽能获得一定的免疫力，但不强，难以防止再次感染。

四、微生物学检查法

标本 不同病型采取不同标本。化脓性病灶采取脓汁、渗出液；疑为败血症采取血液；脑膜炎采取脑脊液；食物中毒则分别采集剩余食物、病人呕吐物和粪便等。

直接涂片镜检 取标本涂片，革兰染色后镜检。一般根据细菌形态、排列和染色性可作出初步诊断。

分离培养和鉴定 将标本接种至血琼脂平板，37℃孵育18～24h后挑选可疑菌落行涂片染色镜检。血液标本需先经肉汤培养基增菌后再接种血琼脂平板。

致病性葡萄球菌的鉴定主要根据产生凝固酶和耐热核酸酶，产生金黄色色素，有溶血性。发酵甘露醇等作为参考指标。由于凝固酶阴性株有时亦能致病，在最后判定时应结合临床病症。

进一步的型别鉴定可以采用细菌核糖体基因分型法（ribotyping），质粒指纹图谱分型法等。

葡萄球菌肠毒素检查 取食物中毒患者的呕吐物、粪便或剩余食物作细菌分离培养和鉴定的同时，接种至肉汤培养基，孵育后取滤液注射至6～8周龄的幼猫腹腔。若在注射后4h内发生呕吐、腹泻、体温升高或死亡等现象者，提示有肠毒素存在的可能。

近年来，采用免疫学方法检测葡萄球菌肠毒素较多，其中以ELISA法为实用。ELISA法可检出ng水平的肠毒素，且能在30min内完成。目前也可用特异的DNA基因探针杂交技术检测葡萄球菌是否为产肠毒素菌株。

五、防 治 原 则

注意个人卫生和消毒隔离，以防止医源性感染。皮肤有创伤时应及时使用消毒药物，杀死或制止侵入的病菌繁殖。皮肤有化脓性感染者，尤其是手部，未治愈前不宜从事食品制作或饮食服务行业。

目前由于抗生素的广泛应用，耐药株日益增多。葡萄球菌耐青霉素G者高达90%以上，因此，及时选用适当的抗生素和相应的剂量非常重要，必须根据药物敏感试验结果，选用敏感抗菌药物。

反复发作疖病的患者，可试用自身疫苗疗法，有一定的疗效。自身疫苗系从病人自体分出的葡萄球菌，培养于琼脂斜面上，用无菌生理盐水洗下，置60℃水浴中加热1h杀死细菌。然后将菌液稀释至5～10亿/ml，加防腐剂即成。治疗时，第一次皮下注射0.1ml，每隔5～7d注射1次，剂量递增，直至1ml。其有效机制可能与脱敏作用有关。

第二节 链球菌属

链球菌属（*Streptococcus*）细菌是化脓性球菌中的另一大类常见细菌，为链状或个别种成双排列的革兰阳性球菌。广泛分布于自然界、人及动物粪便和健康人鼻咽部，大多数不致病。链球菌引起人类的疾病主要有各种化脓性炎症、猩红热、新生儿败血症、细菌性心内膜炎以及风湿热、肾小球肾炎等超敏反应性疾病。

一、生物学性状

形态与染色 球形或椭圆形，直径0.6～1.0μm。呈链状排列，长短不一，从4～8个至20～30个菌细胞组成不等（图8-2）。链的长短与菌种和生长环境有关，在液体培养基中形成的链状排列常比取材于固体培养基上者长。无芽胞。无鞭毛。多数菌株在培养早期（2～4h）形成透明质酸的荚膜，随着培养时间的延长，因菌自身产生的透明质酸酶而使荚膜消失，细胞壁外有菌毛样结构，含型特异的M蛋白。

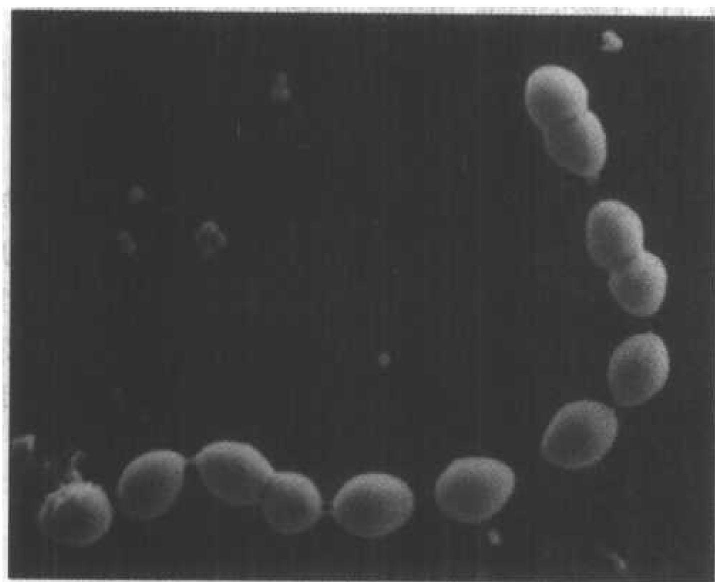


图8-2 链球菌

（扫描电镜 ×12 000 谢念铭、王济中提供）

链球菌易被普通的碱性染料着色。自病灶新分离株为革兰染色阳性，若培养日久的老龄菌或被中性粒细胞吞噬后，可转呈革兰阴性。

培养特性 大多兼性厌氧，少数菌株专性厌氧。营养要求较高，普通培养基上生长不良，需补充血液、血清、葡萄糖等。最适生长温度为37℃，最适pH为7.4～7.6。在血清肉汤中易形成长链，管底呈絮状沉淀。在血琼脂平板上，形成灰白色、表面光滑、边缘整齐、直径0.5～0.75mm的细小菌落。不同菌株溶血不一。

生化反应 分解葡萄糖，产酸不产气。对乳糖、甘露醇、水杨苷、山梨醇的分解，随不同菌株而异。链球菌一般不分解菊糖，不被胆汁溶解，这两特性可用来鉴别甲型溶

血性链球菌和肺炎链球菌。链球菌与葡萄球菌不同，不产生触酶。

抗原结构 链球菌的抗原结构较复杂（图8-3），主要有3种：

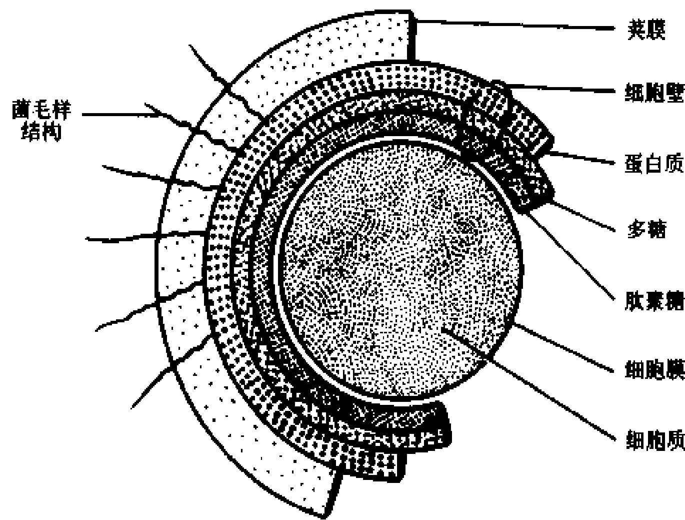


图8-3 链球菌抗原结构模式图

1. 蛋白质抗原 或称表面抗原。具有型特异性，位于C抗原外层。A群链球菌有M、T、R和S不同性质的蛋白质抗原，与致病性有关的是M抗原。

2. 多糖抗原 或称C抗原。系群特异性抗原，是细胞壁的多糖组分，可用稀盐酸等提取。

3. 核蛋白抗原 或称P抗原。无特异性，各种链球菌均相同，并与葡萄球菌有交叉。

分类 链球菌的分类，常用下列两种方法。

1. 根据溶血现象分类 链球菌在血琼脂平板培养基上生长繁殖后，按产生溶血与否及其溶血现象分为3类。

(1) 甲型溶血性链球菌（α-hemolytic streptococcus）：菌落周围有1～2mm宽的草绿色溶血环，称甲型溶血或α溶血，因而这类菌亦称草绿色链球菌（*streptococcus viridans*）。α溶血环中的红细胞并未完全溶解。这类链球菌多为条件致病菌。

(2) 乙型溶血性链球菌（β-hemolytic streptococcus）：菌落周围形成一个2～4mm宽、界限分明、完全透明的无色溶血环，称乙型溶血或β溶血，β溶血环中的红细胞完全溶解，因而这类菌亦称为溶血性链球菌（*Streptococcus hemolyticus*）。这类链球菌致病力强，常引起人类和动物的多种疾病。

(3) 丙型链球菌（γ-streptococcus）：不产生溶血素，菌落周围无溶血环，因而亦称不溶血性链球菌（*Streptococcus non-hemolyticus*）。一般不致病，常存在于乳类和粪便中。

2. 根据抗原结构的分类 按链球菌细胞壁中多糖抗原不同，可分成A、B、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、O、P、Q、R、S和T群，近年又增加U、V群，共20群。对人致病的链球菌菌株，90%左右属A群，B、C、D、G群偶见。同群链球菌间，

因表面蛋白质抗原不同，又分若干型。例如A群根据其M抗原不同，可分成约100个型；B群分4个型和C群分13个型等。链球菌的群别与溶血性间无平行关系，但对人类致病的A群链球菌多数呈现乙型溶血。

抵抗力 除D群和某些N群链球菌能耐60℃ 30min外，一般链球菌均可被55℃杀死。对常用消毒剂敏感。在干燥尘埃中生存数月。乙型链球菌对青霉素、红霉素，四环素和磺胺药都很敏感。青霉素是链球菌感染的首选药物，极少有耐药株发现。

二、致　病　性

致病物质 A群链球菌也称化脓性链球菌（pyogenic streptococcus），或溶血性链球菌，是人类细菌感染常见的病原菌之一。有较强的侵袭力，并产生多种外毒素和胞外酶。致病物质中，具有与生物膜高度亲和力的胞壁脂磷壁酸（LTA）和纤维粘连蛋白结合蛋白（FBP）等粘附素，是使该菌能定植在机体皮肤和呼吸道粘膜等表面的主要侵袭因素。当侵入体内后，M蛋白的抗吞噬作用甚为重要。一旦病菌大量繁殖，链球菌溶素、致热外毒素等毒性物质以及透明质酸酶、链激酶、链道酶等侵袭性物质造成机体的多种病变。

1. 链球菌溶素（streptolysin）　有溶解红细胞、破坏白细胞和血小板的作用。根据对O_2的稳定性，分为链球菌溶素O（streptolysin O，SLO）和链球菌溶素S（streptolysin S，SLS）两种。

（1）SLO：绝大多数A群链球菌菌株和许多C、G群菌株能产生SLO。SLO为含有-SH基的蛋白质，分子量50～70kDa。SLO对O_2敏感，遇O_2时，-SH基被氧化为-SS-基，失去溶血活性。若加入亚硫酸钠或半胱氨酸等还原剂，溶血作用可以逆转。SLO对中性粒细胞有破坏作用，当进入后引起胞内溶酶体的释放，导致细胞死亡。中性粒细胞释放出的水解酶类还可破坏邻近组织，加重链球菌的感染。SLO对哺乳动物的血小板、巨噬细胞、神经细胞等也有毒性作用。小鼠、豚鼠或家兔经大剂量SLO注射后，数分钟内动物死亡，此因SLO对心肌有急性毒性作用，引起心跳骤停所致。85%～90%链球菌感染的患者，于感染后2～3周至病愈后数月到1年内可检出SLO抗体。风湿热病人中的血清SLO抗体显著增高，活动性病例升高更为显著，一般其效价在1∶400以上。因此，测定SLO抗体含量，可作为链球菌新近感染指标之一或风湿热及其活动性的辅助诊断。

（2）SLS：多数A、C、G群及有些其他群链球菌产生SLS。链球菌在血琼脂平板上菌落周围的β溶血环是由这种对O_2稳定的SLS所致。SLS是小分子糖肽，无免疫原性。对热和酸敏感，不易保存。SLS溶解红细胞慢于SLO。

2. 致热外毒素（pyrogenic exotoxin）　曾称红疹毒素（erythrogenic toxin）或猩红热毒素（scarlet fever toxin），是人类猩红热的主要毒性物质。由A群链球菌溶原菌菌株产生。蛋白质性质，有A、B、C3个血清型，分子量分别为8、17和13kDa。较耐热，96℃ 45min才能完全灭活。

链球菌致热外毒素（SPE）具有以下作用：对兔有致热性和致死性，采用静脉注射

途径的最小致热量为0.07μg/kg和LD_{50}为3500μg/kg；使兔对致死性内毒素休克的敏感性增加10万倍左右；对培养的脾细胞和巨噬细胞有毒性；能改变血脑屏障通透性，直接作用于下丘脑而引起发热反应等。个别学者认为，链球菌致热外毒素有时也可导致毒性休克综合征。

3．透明质酸酶　又名扩散因子。能分解细胞间质的透明质酸，使病菌易在组织中扩散。

4．M蛋白　是A群链球菌细胞壁中的蛋白质组分，有近100种血清型。含M蛋白的链球菌有抗吞噬和抵抗吞噬细胞内的杀菌作用。此外，M蛋白与心肌、肾小球基底膜有共同的抗原，可刺激机体产生特异性抗体，损害人类心血管等组织，故与某些超敏反应疾病有关。

5．链激酶（streptokinase；SK）　亦称链球菌溶纤维蛋白酶（streptococcal fibrinolysin）。作用机制与葡激酶类似，能使血液中纤维蛋白酶原变成纤维蛋白酶，故可溶解血块或阻止血浆凝固，有利于病菌在组织中扩散。链激酶耐热，100℃ 50min仍保持活性。国内研究的重组链激酶（r-sk），用于治疗急性心肌梗塞患者十分有效。

6．链道酶（streptodornase；SD）　亦称链球菌DNA酶（streptococcal deoxyribonuclease），主要由A、C、G群链球菌产生。能降解脓液中具有高度粘稠性的DNA，使脓液稀薄，促进病菌扩散。由于SD和SK能致敏T细胞，故常用来进行皮肤试验，通过迟发型超敏反应原理测定受试者的细胞免疫功能，这项试验称为SK-SD皮试。此外，现已将SK、SD制成酶制剂，临床上用以液化脓性渗出液。例如应用于肺炎链球菌所致的脓胸等疾患，使脓液变稀，以利抗菌药物的治疗。

7．F蛋白（protein F）　F蛋白位于化脓性链球菌细胞壁内，其结合区暴露在菌体表面。F蛋白具有纤维粘连蛋白（fibronectin）的受体，能与上皮细胞表面的纤维粘连蛋白结合，使得链球菌粘附到上皮细胞表面，以利于细菌在宿主体内定植和繁殖。分子量为120kDa，是化脓性链球菌重要的粘附素之一。

超抗原（superantigen）　1989年后，Janeway等在研究细菌毒素致病机制时，发现葡萄球菌肠毒素刺激淋巴细胞增殖的能力比植物凝集素高的特点，因此提出了超抗原的概念。超抗原是指那些不经过抗原递呈细胞的处理，便能与MHC Ⅱ类分子结合，直接激活T细胞增殖，使其能释放细胞因子（如IL-1，IL-2，TNF α和INF-γ等）的抗原。超抗原具有类似丝裂原的作用，其激活的T细胞数量约为普通抗原的数千倍。对人致病的革兰阳性金黄色葡萄球菌产生的肠毒素A、B、C、D、E、G以及TSST-1、A群链球菌产生的SPE A和SPE C都具有超抗原活性，是一组分子量为22～66kDa的蛋白质。超抗原除具有毒性作用外，还有与免疫抑制和自身免疫疾病等有关的多种生物学意义。

所致疾病　A群链球菌引起的疾病约占人类链球菌感染的90%，其感染源为病人和带菌者。传播方式有空气飞沫传播、经皮肤伤口感染和经污染食品传播等途径。

链球菌引起人类多种疾患，大致可分成化脓性、中毒性和超敏反应性三类。属于化脓性感染的有淋巴管炎、淋巴结炎、蜂窝组织炎、痈、脓疱疮等局部皮肤和皮下组织感染；还有扁桃体炎、咽炎、咽峡炎、鼻窦炎、产褥感染、中耳炎、乳突炎等其他系统的感染。属于中毒性疾病的有猩红热。风湿热和急性肾小球肾炎则是链球菌性超敏反应性

疾病。

B群链球菌　学名无乳链球菌（*S. agalactiae*），能引起牛乳房炎，危害畜牧业颇甚，故早为兽医界注目。后发现该菌也能感染人类，尤其是新生儿。引起的败血症、脑膜炎、肺炎等死亡率极高，且可有神经系统后遗症，这样又被医学界所重视。鉴于该菌引起的感染不只限于乳房炎，其细胞壁中

数量众多的菌群粘附于牙面菌斑。这些菌群，尤其是其中的乳杆菌能发酵多种糖类产生大量酸，使 pH 降达 4.5 左右，导致牙釉质及牙质脱钙，造成龋损。

三、免 疫 性

A 群链球菌感染后，血清中出现多种抗体。抗 M 蛋白抗体于链球菌感染数周至数月内可在患者血清中测出，一般存在 1~2 年，有的甚至长达 10~30 年。动物实验和流行病学调查均证实特异蛋白抗体能保护同抗原型链球菌的再感染，主要是增强吞噬细胞的作用。链球菌因其型别多，各型间无交叉免疫力，故常可反复感染。不同型 M 蛋白均可诱生 γ 干扰素，藉以增强吞噬功能。患过猩红热后可产生同型的致热外毒素抗体，能建立牢固的同型抗毒素免疫。

四、微生物学检查法

标本 根据不同疾病，采取有关标本。例如创伤感染的脓汁，咽喉、鼻腔等病灶的棉拭，败血症的血液等。风湿热患者可取血作抗链球菌溶素 O 的抗体测定。

直接涂片镜检 脓汁可直接涂片行革兰染色后镜检，发现有典型的链状排列球菌时，可作出初步诊断。

分离培养与鉴定 脓汁或棉拭直接接种在血琼脂平板，37℃孵育 24h 后，如有 β 溶血菌落，应与葡萄球菌区别；α 溶血菌落，要和肺炎链球菌鉴别。血液标本应先增菌后再划种血平板。遇有心内膜炎病例，因甲型溶血性链球菌生长缓慢，至少将孵育时间延长至 3 周才能判定结果。

血清学试验 抗链球菌溶素 O 试验（antistreptolysin O test，ASO test），简称抗 O 试验，常用于风湿热的辅助诊断。风湿热患者血清中抗 O 抗体比正常人显著增高，大多在 250 单位左右；活动性风湿热患者一般超过 400 单位。

五、防 治 原 则

链球菌感染主要通过飞沫传播，应对病人和带菌者及时治疗，以减少传染源。此外，还应注意对空气、器械和敷料等消毒。对急性咽峡炎和扁桃体炎患者，尤其是儿童，须治疗彻底，以防止急性肾小球肾炎、风湿热以及亚急性细菌性心内膜炎的发生。

A 群链球菌感染的治疗，青霉素 G 为首选药物。预防感冒，避免链球菌感染，对减少风湿热和肾小球肾炎等超敏反应性疾病的发生有较好效果。

第三节 肺炎链球菌

肺炎链球菌（*S. pneumoniae*），俗称肺炎球菌（pneumococcus）。经常寄居于正常人的鼻咽腔中，多数不致病或致病力弱，仅少数有致病力，是细菌性肺炎的主要病原菌。

一、生物学性状

形态与染色 革兰阳性球菌，菌体呈矛头状，多成双排列，宽端相对，尖端向外（图8-4）。在痰液、脓汁、肺组织病变中亦可呈单个或短链状。无鞭毛。无芽胞。在机体内或含血清的培养基中能形成荚膜，荚膜需特殊染色才可见。

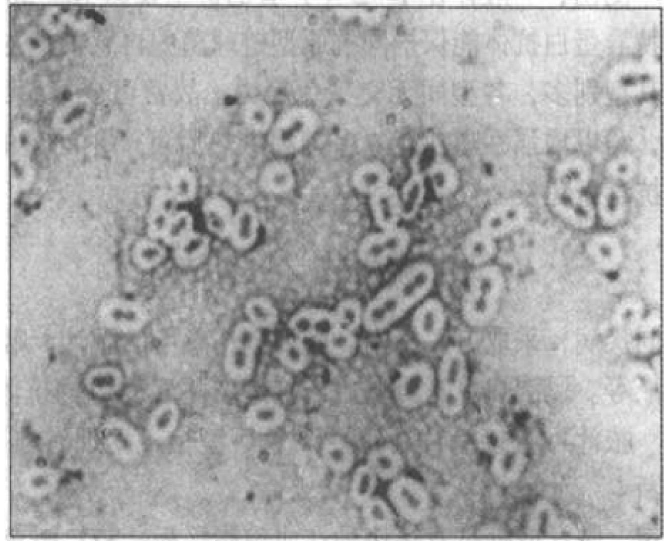


图8-4 肺炎链球菌
（荚膜染色 ×1 500）

培养特性 营养要求较高，在含有血液或血清的培养基中才能生长。兼性厌氧。最适温度为37℃，最适pH为7.4～7.8。在血平板上的菌落细小、灰白色、圆形略扁、半透明，有草绿色α溶血环。与甲型溶血性链球菌很相似，第3型菌落较大，直径2～3mm，粘液状，此因该型菌有大量荚膜物质形成之故。若孵育时间＞48h，肺炎链球菌产生足量的自溶酶，菌体渐溶解，菌落中央下陷呈脐状。在血清肉汤中孵育，初期呈混浊生长，稍久亦因菌自溶而使培养液渐变澄清。自溶酶是一种L-丙氨酸-N-乙酰胞壁酰胺酶，能切断肽聚糖上L-丙氨酸与N-乙酰胞壁酸间的连接键，从而破坏细胞壁，使菌溶解。自溶酶在菌生长的稳定期被激活，也可被胆汁或胆盐等活性物质激活，从而促进培养物中的菌体溶解。

生化反应 肺炎链球菌对葡萄糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖等分解，产酸不产气。对菊糖发酵反应不一，大多数新分离株为阳性，故菊糖在鉴别肺炎链球菌与甲型溶血性链球菌时仅有参考价值。可靠的鉴别法是胆汁溶菌试验。加牛、猪、兔等新鲜胆汁或10%去氧胆酸钠、2%牛磺胆酸钠至菌液，置室温或37℃，在5～10min出现细菌溶解、培养液变清者为肺炎链球菌。自溶酶不耐热，65℃ 30min被破坏，即使再加入胆汁，菌亦不会溶解。甲型溶血性链球菌的胆汁溶菌试验为阴性。

抗原结构与分型

1. 荚膜多糖抗原 根据抗原不同，肺炎链球菌可区分为84个血清型，分别以1、2、3、4……表示之，个别型还可分成不同的亚型，如7A、7B、7C和7D亚型。其中有

20多个型可引起疾病。某些肺炎链球菌血清型之间，或个别型与其他细菌间可有交叉反应。例如肺炎链球菌3型与8型间、3型、8型与大肠埃希菌K87抗原间，6型、16型、18型、22型与N群链球菌磷壁酸抗原间，10型与克雷伯菌K1及2型与K2、K4和K8间都有共同抗原存在。此外，肺炎链球菌14型与人类A型血型抗原亦有交叉反应。

2. 菌体抗原

(1) C多糖：一种特异性多糖，存在于肺炎链球菌胞壁中，为各型菌株所共有。与其他链球菌的群特异性C多糖结构类似，但抗原性不同。在Ca^{2+}存在时，肺炎链球菌C多糖可为血清中一种称为C反应蛋白（C reactive protein；CRP）的β球蛋白所沉淀。CRP不是抗体，正常人血清中只含微量，急性炎症患者含量剧增，故用C多糖来测定CRP，对活动性风湿热等诊断有一定意义。经体外研究表明，CRP与肺炎链球菌多糖结合能激活补体，并增强吞噬细胞的吞噬功能。

(2) M蛋白：型特异抗原，类似A群链球菌的M蛋白，但抗原性不同。肺炎链球菌M蛋白与菌毒力无关。

抵抗力 对多数理化因素抵抗力较弱。对一般消毒剂敏感，在3%石炭酸或0.1%升汞溶液中1～2min即死亡，对肥皂也很敏感。有荚膜株抗干燥力较强，在干痰中可存活1～2月。

二、致 病 性

致病物质

1. 荚膜 有抗吞噬作用，是肺炎链球菌的主要侵袭力。当有荚膜的光滑（S）型菌失去荚膜成为粗糙（R）型时，其毒力减低或消失。

2. 肺炎链球菌溶素O（pneumolysin O） 对O_2敏感，性质类似A群链球菌的SLO。能溶解羊、豚鼠和人的红细胞。此外，还能抑制淋巴细胞的增殖，抑制中性粒细胞的趋化作用及其吞噬作用等。

3. 脂磷壁酸 存在细胞壁表面，分子量为37kDa。在肺炎链球菌粘附到肺上皮细胞或血管内皮细胞表面起重要作用。

4. 神经氨酸酶 在新分离株中发现有该酶，能分解细胞膜糖蛋白和糖脂的N-乙酰神经氨酸，可能对肺炎链球菌能在鼻咽部和支气管粘膜上定植、繁殖和扩散有关。

所致疾病 肺炎链球菌主要引起人类大叶性肺炎。成人中75%由1、2、3、4、5、7、8、12、14和19型等十个型引起，其中半数以上属1、2、3型。3型肺炎链球菌能产生大量荚膜物质，毒力强，病死率高。儿童的大叶性肺炎大多是1、6、14和19型所致，其中以第14型最常见。肺炎后可继发胸膜炎、脓胸，也可引起中耳炎、乳突炎、副鼻窦炎、脑膜炎和败血症等。

肺炎链球菌在正常人的口腔及鼻咽部经常存在，一般不致病，只形成带菌状态。当机体免疫力下降时才致病。尤其在呼吸道病毒感染后或婴幼儿、老年体弱者易发生肺炎链球菌性肺部感染。

三、免 疫 性

肺炎链球菌感染后，可以建立较牢固的型特异性免疫，故同型病菌的二次感染少见。其免疫机制主要是产生荚膜多糖型特异抗体，这种抗体在发病后5～6d就可形成。抗体起调理作用，增强吞噬功能。1、4和25型荚膜多糖尚能直接激活补体旁路途径，这在特异性抗体未产生前，对入侵病菌的杀灭更具重要意义。

四、微生物学检查法

标本 根据病种，采取痰液、脓汁、血液或脑脊液等。

直接涂片镜检 痰、脓或脑脊液沉淀物，可作涂片并革兰染色后镜检。如发现典型的革兰阳性具有荚膜的双球菌存在，即可作初步诊断。

分离培养与鉴定 痰或脓液直接划种于血琼脂平板上，37℃孵育24h后，挑取α溶血的可疑菌落作鉴定。血液或脑脊液须先经血清肉汤增菌，然后再在血平板上行分离培养。

肺炎链球菌的鉴定，主要应与甲型溶血性链球菌鉴别。其中以胆汁溶菌试验、菊糖发酵和奥普托辛（optochin；ethyl hydrocupreine dihydrochloride）试验最为常用。必要时可作小鼠毒力试验加以鉴别。在上述试验中，肺炎链球菌均应阳性，而甲型溶血性链球菌为阴性。

Optochin敏感试验 方法似药敏。将待试菌涂布于血琼脂平板表面；取直径6mm无菌滤纸圆片在1:2000 optochin溶液中浸湿，置于平板涂菌处。37℃ 48h后观察抑菌圈大小，肺炎链球菌的抑制圈直径常在20mm以上，甲型溶血性链球菌（约98%）小于12mm。

动物试验 小鼠对肺炎链球菌高度易感。少量具有毒力的肺炎链球菌注入小鼠腹腔内，一般24h内死亡。此亦可用于有杂菌污染严重的标本，待鼠濒死剖检后，取心血或腹腔液常可分离得肺炎链球菌纯培养。若为甲型溶血性链球菌，小鼠并不死亡。

五、防 治 原 则

近年来，国外研制多价肺炎链球菌荚膜多糖疫苗以预防儿童、老人和慢性病患者等肺炎链球菌性肺炎、败血症、脑膜炎等，有较好效果。开初使用1、2、3、4、6A、7F、8、9N、12F、14、18C、19F、23F和25等14价多糖疫苗，在儿童和成人中使用，可预防或减轻由于各型肺炎链球菌所致感染的85%～90%。1983年起，为使预防的覆盖面更广，这种多价疫苗的肺炎链球菌菌型增加至23个型别。

人群感染的肺炎链球菌菌型在不断变迁，而且肺炎链球菌耐药菌株日益增多，因此

具有氧化酶和触酶。

奈瑟菌属有脑膜炎奈瑟菌（*N. meningitidis*）、淋病奈瑟菌（*N. gonorrhoeae*）、干燥奈瑟菌（*N. sicca*）、浅黄奈瑟菌（*N. subflava*）、金黄奈瑟菌（*N. flavescens*）、粘膜奈瑟菌（*N. mucosa*）等。人类是奈瑟菌属细菌的自然宿主，对人致病的只有脑膜炎奈瑟菌和淋病奈瑟菌。除淋病奈瑟菌寄居于尿道粘膜外，其他奈瑟菌均存在于鼻咽腔粘膜。

一、脑膜炎奈瑟菌

俗称脑膜炎球菌（meningococcus），是流行性脑脊膜炎（流脑）的病原菌。

（一）生物学性状

形态与染色 肾形或豆形革兰阴性双球菌，两菌接触面平坦或略向内陷，直径0.6～0.8μm。人工培养后可成卵圆形或球状，排列较不规则，单个、成双或4个相联等。在孵育24h后的培养物中，常呈现衰退形态，菌体大小较不一致，着色亦深浅不匀。在患者脑脊液中，多位于中性粒细胞内，形态典型（图8-5）。新分离菌株大多有荚膜和菌毛。

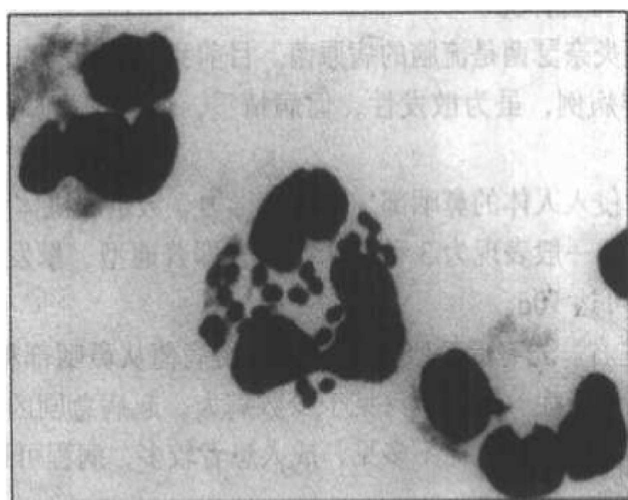


图8-5 脑膜炎奈瑟菌
（脑脊液涂片 ×1 500）

培养特性 营养要求较高，需在含有血清、血液等培养基中方能生长。最常用的是经80℃以上加温的血琼脂平板；由于血液经热变色似巧克力，故名巧克力（色）培养基。专性需氧，5% CO_2 条件下生长更佳。最适生长温度为37℃，低于30℃不生长。最适pH为7.4～7.6。37℃孵育24h后，形成直径1.0～1.5mm的无色、圆形、光滑、透明，似露滴状的菌落。在血琼脂平板上不溶血。在血清肉汤中呈混浊生长。产生自溶酶，人工培养物如不及时转种，超过48h常死亡。自溶酶经60℃ 30min或甲醛液处理均可使之破坏。

生化反应 大多数脑膜炎奈瑟菌分解葡萄糖和麦芽糖，产酸不产气。

抗原结构与分类 脑膜炎奈瑟菌的主要组分有四种。

1．荚膜多糖群特异性抗原　目前国外已分成A、B、C、D、X、Y、Z、29E、W135和L等10个血清群。我国建立了H、I、K三个新血清群，故总计13个血清群，其中以C群致病力最强。

2．外膜蛋白型特异性抗原　根据菌外膜蛋白组分不同，脑膜炎奈瑟菌各血清群又可分为若干血清型。但A群除外，其所有菌株的外膜蛋白相同。

3．脂多糖抗原　与大肠埃希菌间有交叉反应。

4．核蛋白抗原　无特异性，与肺炎链球菌者相同。

抵抗力　对理化因素的抵抗力很弱。对干燥、热力、消毒剂等均敏感。在室温中3h即死亡；55℃ 5min内被破坏。1%石炭酸、75%乙醇或0.1%新洁尔灭均可迅速使之死亡。

（二）致病性

致病物质　新分离的脑膜炎奈瑟菌具有荚膜和菌毛。荚膜能抗吞噬作用，菌毛可粘附至咽部粘膜上皮细胞表面，利于进一步侵入。脑膜炎奈瑟菌的主要致病物质是内毒素。病菌侵入机体繁殖后，因自溶或死亡而释放出内毒素。内毒素作用于小血管和毛细血管，引起坏死、出血，故出现皮肤瘀斑和微循环障碍。严重败血症时，因大量内毒素释放可造成DIC及中毒性休克。

所致疾病　脑膜炎奈瑟菌是流脑的病原菌。目前我国流行的血清群，95%以上是A群。近年亦发现B群病例，虽为散发性，但病情重，死亡率高。此外，尚有少数是C群菌株。

病菌主要经飞沫侵入人体的鼻咽部。按病菌毒力、数量和机体免疫力高低，流脑病情复杂多变轻重不一。一般表现为3种临床类型，即普通型、暴发型和慢性败血症型。潜伏期2～3d，长者可达10d。

普通型占90%左右。先有上呼吸道炎症，继而病菌从鼻咽部粘膜进入血流，到达脑脊髓膜，产生化脓性炎症。暴发型只见于少数病人，起病急剧凶险，若不及时抢救，常于24h内危及生命。慢性败血症不多见，成人患者较多，病程可迁延数日。普通型和暴发型以儿童罹患为主。

（三）免疫性　机体对脑膜炎奈瑟菌的免疫性以体液免疫为主。群特异多糖抗体和型特异外膜蛋白抗体在补体存在下能杀伤脑膜炎奈瑟菌。

特异性脑膜炎奈瑟菌抗体的来源除患病和免疫接种外，尚可因带菌状态、正常寄居于鼻咽部的不致病脑膜炎奈瑟菌间的交叉抗原而获得一定的免疫性。儿童因免疫力弱，发病率较高。

（四）微生物学检查法

标本　采取病人的脑脊液、血液或刺破出血瘀斑取其渗出物。带菌者检查可取鼻咽拭。

脑膜炎奈瑟菌对低温和干燥极敏感，故标本采取后应注意保暖保湿并立即送检。接种的培养基宜预温，以免病菌死亡，影响检出率。最好是床边接种。

直接涂片镜检

1. 脑脊液　经离心沉淀后，取沉淀物涂片，革兰染色或美蓝染色后镜检，如在中性粒细胞内、外有革兰阴性双球菌，可作出初步诊断。

2. 出血瘀斑　碘酊、乙醇消毒病变皮肤，用无菌针头挑破出血瘀斑，挤出少量血液或组织液，制成印片，干燥后革兰染色。阳性率在80%左右。

分离培养与鉴定　血液或脑脊液先接种至血清肉汤培养基增菌后，再在巧克力（色）平板上行划线分离。平板置于含5% CO_2 的环境中孵育。挑取可疑菌落涂片染色检查，并作生化反应和玻片凝集试验鉴定。

快速诊断法　脑膜炎奈瑟菌易自溶，病人脑脊液和血清中可有其可溶性抗原存在。应用血清学原理，可用已知群抗体快速检测相应抗原的有无。

1. 对流免疫电泳　一般1h内即可得结果。本法较常规培养法敏感，特异性也高；且经治疗的患者也可用此来协助诊断。

2. SPA协同凝集试验　先用脑膜炎奈瑟菌IgG抗体标记Cowan Ⅰ葡萄球菌，然后加入待测血清或脑脊液，若标本中含有相应可溶性抗原，则可见葡萄球菌聚集在一起的凝集现象。

（五）防治原则　对儿童注射流脑荚膜多糖疫苗进行特异性预防，常用A、C二价或A、C、Y和W135四价混合多糖疫苗。注意隔离治疗流脑患者，控制传染源。流行期间儿童可口服磺胺药物等预防。

二、淋病奈瑟菌

淋病奈瑟菌俗称淋球菌（gonococcus），是人类淋病的病原菌，主要引起人类泌尿生殖系统粘膜的急性或慢性化脓性感染。淋病是危害性大的性传播疾病之一，也是我国目前流行的发病率最高的性病。

（一）生物学性状

形态与染色　形态与脑膜炎奈瑟菌相似，直径0.6～0.8μm。常成双排列，两菌接触面平坦，似一对咖啡豆。脓汁标本中，大多数淋病奈瑟菌常位于中性粒细胞内。但慢性淋病病人的淋病奈瑟菌多分布在细胞外。无芽胞。无鞭毛。有荚膜和菌毛。革兰染色呈阴性，用碱性美蓝液染色时，菌体呈深蓝色。

培养特性　专性需氧，初次分离培养时须供给5% CO_2。营养要求高，巧克力（色）血琼脂平板是适宜培养基。最适生长温度为35～36℃，低于30℃或高于38.5℃生长停止。最适pH为7.5。孵育48h后，形成凸起、圆形、灰白色、直径0.5～1.0mm的光滑型菌落。根据菌落大小、色泽等分T1～T5五种类型，新分离株属T1、T2型，菌落小，有菌毛。人工培养基转种后可转变为T3、T4和T5型。

生化反应　只分解葡萄糖，产酸不产气，不分解其他糖类。氧化酶试验阳性。

抗原结构与分类　淋病奈瑟菌的表层抗原至少可以分为三类。

1. 菌毛蛋白抗原　菌毛存在于有毒菌株，直径约6nm，每根菌毛是由 10×10^3 个相同的蛋白质单位组成的单丝状结构。由不同菌株提取的菌毛，其抗原性不同。

2. 脂多糖抗原　与其它革兰阴性菌的LPS相似。

3. 外膜蛋白抗原　包括PⅠ、PⅡ和PⅢ。PⅠ为主要外膜蛋白，占淋病奈瑟菌外膜总重量的60%以上，分子量32～40kDa，是淋病奈瑟菌分型的主要基础，可分成A、B、C、D、E、F、G、H、N、R、S、T、U、V、W和X等16个不同血清型，有助于流行病学调查。

抵抗力　淋病奈瑟菌对热、冷、干燥和消毒剂极度敏感，与脑膜炎奈瑟菌相似。

（二）致病性

致病物质　淋病奈瑟菌进入尿道后，通过菌毛粘附到柱状上皮细胞表面，在局部形成小菌落后，再侵入细胞增殖。T1、T2型的淋病奈瑟菌对人类有毒力，T3～T5型者则无；其差异在于前一类菌有菌毛，后一类则无。有菌毛菌可粘附至人类尿道粘膜，不易被尿液冲去；抗吞噬作用明显，即使被吞，仍能寄生在吞噬细胞内。

外膜蛋白PⅠ可直接插入中性粒细胞的膜上，严重破坏膜结构的完整性导致膜损伤；PⅡ分子参与淋病奈瑟菌间以及菌与一些宿主细胞间的粘附作用；PⅢ则可阻抑杀菌抗体的活性。淋病奈瑟菌的胞壁脂多糖与补体、IgM等共同作用下，在局部形成炎症反应。

淋病奈瑟菌尚能产生IgA1蛋白酶，能破坏粘膜表面存在的特异性IgA1抗体，使菌仍能粘附至粘膜表面。

所致疾病　人类是淋病奈瑟菌的唯一宿主。人类淋病主要通过性接触，淋病奈瑟菌侵入尿道和生殖道而感染，其潜伏期2～5d。母体患有淋菌性阴道炎或宫颈炎时，婴儿出生时可得淋菌性结膜炎者多见。

成人感染初期，一般引起男性前尿道炎，女性尿道炎与宫颈炎。患者出现尿痛、尿频、尿道流脓、宫颈可见脓性分泌物等。如进一步扩散到生殖系统，引起慢性感染，如男性发生前列腺炎，精囊精索炎和附睾炎；女性出现前庭大腺炎和盆腔炎等，是导致不育原因之一。

（三）免疫性　人类对淋病奈瑟菌的感染无天然抵抗力。多数患者可以自愈，并出现特异性IgM、IgG和分泌型IgA抗体，但免疫不持久，再感染和慢性患者较普遍存在。

（四）微生物学检查法

标本　用无菌棉拭法取泌尿生殖道脓性分泌物或子宫颈口表面分泌物

高，且难以确定淋病奈瑟菌对抗生素的敏感性，故基层推广尚有困难。

（五）防治原则 淋病是一种性传播疾病，因而是一个社会问题。成人淋病基本上是通过性交传染，污染的毛巾、衣裤、被褥等也起一定传播作用。开展防治性病的知识教育以及防止不正当的两性关系是非常重要的环节。近年来耐药菌株不断增加，特别是多重耐药的淋病奈瑟菌给防治性病带来困难。为此，还应作药物敏感试验以指导合理选择药物，除了对淋病患者及时彻底治疗外，还应治疗与淋病患者的性接触者。

目前尚无有效的疫苗供特异性预防。

婴儿出生时，不论母亲有无淋病，都应以1%硝酸银或其它银盐溶液滴入两眼，以预防新生儿淋菌性眼炎的发生。

卡他布兰汉菌

卡他布兰汉菌（*B. catarrhalis*），又称为粘膜炎布兰汉菌，归属于莫拉菌属中的布兰汉菌亚属（*Branhamella*）。

革兰阴性球菌。在痰液中常呈肾形双球菌状，存在于吞噬细胞内或外。无鞭毛，无芽胞，一般无荚膜。

营养要求不高，普通培养基上即可生长，需氧，最适生长温度为35℃。菌落无色或灰白色、光滑型、不透明，较长时间培养后，变为粗糙颗粒状，粘附在培养基表面。对糖类均不发酵。抵抗力较强。在干痰中能存活27天，耐65℃ 30min。

卡他布兰汉菌寄居在人或其他哺乳动物的上呼吸道，一般不致病。当机体免疫力低下时，可单独或与其它菌类共同引起粘膜卡他性炎症、急性咽喉炎、支气管炎、肺炎、急性中耳炎或脑膜炎等。是医院内病人上呼吸道感染的常见病原菌。其毒力主要与内毒素有关。该菌的β-内酰胺酶产生率高达90%以上，故临床治疗这类感染时，应根据药物敏感试验结果选用抗生素。

（贾文祥）

第9章 肠杆菌科

肠杆菌科（Enterobacteriaceae）细菌是一大群生物学性状近似的革兰阴性杆菌，常寄居在人和动物的肠道内，亦存在于土壤、水和腐物中。其中大多数是肠道的正常菌群，但当宿主免疫力降低或细菌移位至肠外部位时可成为条件致病菌而引起疾病；少数为病原菌，例如伤寒沙门菌、志贺菌、致病性大肠埃希菌等。

肠杆菌科细菌种类繁多。根据生化反应、抗原结构、核酸杂交和序列分析，目前至少有30个菌属，120个以上的菌种。与医学有关的有埃希菌属、志贺菌属、沙门菌属、克雷伯菌属、变形杆菌属、摩根菌属、枸橼酸菌属、肠杆菌属、沙雷菌属和耶尔森菌属10个菌属，包括25个菌种。

肠杆菌科细菌具有下列共同生物学特性：

1．形态与结构　0.3～1.0×1～6μm中等大小的革兰阴性杆菌。无芽孢。多数为周毛菌。少数有荚膜或包膜。大多有菌毛。

2．培养　兼性厌氧或需氧。营养要求不高，在普通琼脂平板上生长繁殖后形成湿润、光滑、灰白色的直径2～3mm中等大小菌落。在血琼脂平板上，有些菌可产生溶血圈。在液体培养基中，呈均匀浑浊生长。

3．生化反应　活泼，分解多种糖类和蛋白质，形成不同代谢产物，常用以区别不同菌属和菌种。乳糖发酵试验在初步鉴别肠杆菌科中致病菌和非致病菌上有重要价值，一般非致病菌能分解乳糖，而致病菌多数不能。

4．抗原结构　复杂，主要有菌体（O）抗原、鞭毛（H）抗原和荚膜（K）或包膜抗原。其他尚有菌毛抗原。

（1）O抗原：存在于细胞壁脂多糖（LPS）层，具有属、种特异性。其特异性取决于LPS分子末端重复结构多糖链的糖残基种类的排列。O抗原耐热，100℃不被破坏。从病人新分离菌株的菌落大多呈光滑（S）型，在人工培养基上多次传代移种保存日久后，LPS失去外层O特异性侧链，此时菌落变成粗糙（R）型，是为S-R型变异。R型菌株的毒力显著低于S型株。

（2）H抗原：存在于鞭毛蛋白。不耐热，60℃30min即被破坏。H抗原的特异性决定于多肽链上氨基酸的排列序列和空间结构。细菌失去鞭毛后，运动随之消失；同时O抗原外露，是为H-O变异。

（3）荚膜或包膜抗原：位于O抗原外围，能阻止O凝集现象。多糖性质，但60℃30min可去除之。重要的有伤寒沙门菌的Vi抗原，大肠埃希菌的K抗原等。

5．抵抗力　因无芽孢，对理化因素抵抗力不强。60℃30min即死亡。易被一般化

学消毒剂杀灭，常用氯进行饮水消毒。胆盐、煌绿等染料对非致病性肠杆菌科细菌有抑制作用，藉以制备选择培养基来分离有关病原菌。

6. 变异　肠杆菌科细菌易出现变异菌株。除自发突变外；更因相互处于同一密切接触的肠道微环境，可以通过转导、接合或溶原性转换等转移遗传物质，使受体菌获得新的性状而导致变异。其中最常见的是耐药性转移；此外，尚有毒素产生、生化反应特性改变，以及H-O抗原和S-R菌落变异等。这种易变性在其致病性、诊断和防治中都有重要意义。

第一节　埃希菌属

埃希菌属（*Escherichia*）有5个种，其中大肠埃希菌（*E. coli*）是最常见的临床分离菌。

大肠埃希菌，俗称大肠杆菌，婴儿出生后数小时就进入肠道，并终生伴随。当宿主免疫力下降或菌侵入肠外组织或器官，可引起肠外感染。有些特殊菌株能导致腹泻。

大肠埃希菌在环境卫生和食品卫生学中，常用作被粪便污染的检测指标。在分子生物学和基因工程研究中，大肠埃希菌是重要的实验材料。

一、生物学性状

大小0.4～0.7×1～3μm（图9-1）。多数菌株有周身鞭毛。有普通菌毛和性菌毛。肠外感染菌株常有多糖包膜（微荚膜）.

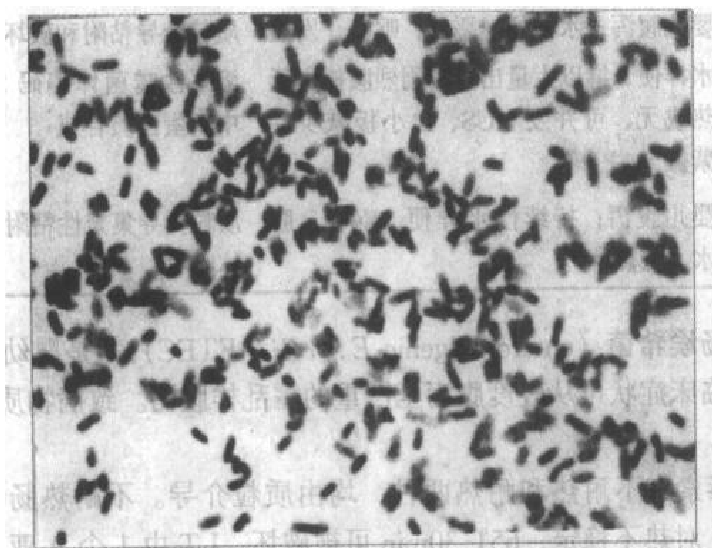


图9-1　大肠埃希菌（×1 500）

S型菌株在普通琼脂平板培养37℃24h后，形成直径2～3mm的圆形凸起灰白色菌落。有些菌株在血琼脂平板上呈β溶血。

能发酵葡萄糖等多种糖类，产酸并产气。发酵乳糖，可同沙门菌、志贺菌等区别。

吲哚、甲基红、VP、枸橼酸盐（IMViC）试验结果为“＋＋－－”。凡 IMViC 试验示此结果的，判为典型的大肠埃希菌，表明被检物已有粪便污染，有传播肠道传染病的危险。

大肠埃希菌抗原主要有 O、H 和 K 三种。O 抗原＞170 种，是血清学分型的基础；H 抗原＞56 种；K 抗原在 100 种以上。根据耐热性不同，K 抗原又分 L、A、B 三型。一个菌株中，一般只含一个型别的 K 抗原。表示大肠埃希菌血清型的方式是按 O:K:H 排列，例如 O111:K58（B4）:H2。

二、致 病 性

多数大肠埃希菌在肠道内不致病，但如移位至肠道外的组织或器官则引起肠外感染，病变以化脓性炎症最为常见。肠外感染中以泌尿系统感染为主，例如尿道炎、膀胱炎、肾盂肾炎。亦可引起腹膜炎、阑尾炎、手术创口感染等。在婴儿、老年人或免疫功能低下者，可引起败血症。在新生儿，大肠埃希菌脑膜炎并不少见。

某些血清型可引起人类腹泻。根据其致病机制不同，主要有五种类型（表 9-1）

表 9-1 引起腹泻的大肠埃希菌

菌株	作用部位	疾病与症状	致病机制
ETEC	小肠	旅行者腹泻；婴幼儿腹泻；水样便，恶心，呕吐，腹痛，低热	质粒介导 LT 和（或）ST 肠毒素，大量分泌液体和电解质
EIEC	大肠	水样便，继以少量血便，腹痛，发热	质粒介导侵袭和破坏结肠粘膜上皮细胞
EPEC	小肠	婴儿腹泻；水样便，恶心，呕吐，发热	质粒介导粘附和破坏上皮细胞
EHEC	大肠	水样便，继以大量出血，剧烈腹痛，低热或无，可并发 HUS、血小板减少性紫癜	溶原性噬菌体编码 SLT-Ⅰ或 SLT-Ⅱ，中断蛋白质合成
EAggEC	小肠	婴儿腹泻；持续性水样便，呕吐，脱水，低热	质粒介导集聚性粘附上皮细胞，阻止液体吸收

肠产毒型大肠埃希菌（enterotoxigenic *E. coli*，ETEC） 是婴幼儿和旅游者腹泻的重要病原菌。临床症状可从轻度腹泻至严重的霍乱样腹泻。致病物质主要是肠毒素和定植因子。

ETEC 的肠毒素有不耐热和耐热两种，均由质粒介导。不耐热肠毒素（heat labile enterotoxin，LT）对热不稳定，65℃ 30min 可被破坏。LT 由 1 个 A 亚单位和 5 个 B 亚单位组成。A 亚单位是毒素的活性部位。B 亚单位与肠粘膜上皮细胞表面的 GM1 神经节苷脂结合后，使 A 亚单位穿越细胞膜与腺苷环化酶作用，令胞内 ATP 转化为 cAMP。胞质内 cAMP 水平增加后，导致肠粘膜细胞内水、钠、氯、碳酸氢钾等过度分泌至肠腔，导致腹泻。LT 一般不引起肠粘膜的炎症或组织病变。LT 与霍乱肠毒素两者间的氨基酸组成同源性达 75% 左右；它们的抗原性高度交叉；两者 B 亚单位的肠粘膜结合

受体都是同一个 GM1 神经节苷脂。

ETEC 的耐热肠毒素（heat stable enterotoxin，ST）对热稳定，100℃加热 20min 仍不失活性。ST 的作用机制与 LT 的不同，其引起腹泻是通过激活肠粘膜细胞上的鸟苷环化酶，使胞内 cGMP 量增多而导致。

LT 又可分 LT-Ⅰ和 LT-Ⅱ两型，ST 亦可分 STa 和 STb。LT-Ⅰ型和 STa 型由人源株产生，而 LT-Ⅱ型和 STb 型则源自动物菌株。

菌毛是 ETEC 致病的另一重要因素。能形成肠毒素而无菌毛的菌株，不会引起腹泻。ETEC 菌毛的粘附作用具有高度专一性，并将这类粘附素（adhesin）常称之为定植因子（colonization factor）。例如 ETEC 的定植因子有 I 型菌毛、CFA/Ⅰ（colonization factor antigen type Ⅰ）和 CAF/Ⅱ；猪 ETEC 的有 K88、987P、F41、F107 等；K99 是猪、羊、牛 ETEC 所共有。定植因子具有很强的抗原性，能刺激宿主产生特异性抗体。在兽医界已制成口饲菌毛疫苗，在猪群中人工免疫后，可抵抗猪 ETEC 的侵袭。

CAF/Ⅰ和 CAF/Ⅱ均由质粒介导，这些质粒也可同时编码 LT 和（或）ST。

与 ETEC 致病有关的物质尚有其内毒素 LPS，以及具有抗吞噬作用的 K 抗原等。

肠侵袭型大肠埃希菌（enteroinvasive *E. coli*，EIEC） 较少见，主要侵犯较大儿童和成人。所致疾病很像菌痢，腹泻呈脓血便，有里急后重，故曾称志贺样大肠埃希菌（shigelloid *E. coli*）。EIEC 不产生肠毒素，能侵袭结肠粘膜上皮细胞并在其中生长繁殖。菌死亡崩解后释放出内毒素，破坏细胞形成炎症和溃疡，导致腹泻。EIEC 的侵袭与含编码侵袭性 pINV 基因的一种大质粒（120-140MD）有关，携带该质粒的菌株可引起豚鼠角膜 Sereny 试验阳性，并可侵袭 HeLa 细胞。对 EIEC 的大质粒与志贺菌编码侵袭性基因的大质粒高度同源。含侵袭性基因的探针，EIEC 和志贺菌中的有毒株均能发生特异性反应。

EIEC 无动力、生化反应和抗原结构也近似志贺菌。因此，若不注意，容易误诊为志贺菌。

肠致病型大肠埃希菌（enteropathogenic *E. coli*，EPEC）是婴幼儿腹泻的主要病原菌，严重者可致死；成人少见。不产生肠毒素。病菌在十二指肠、空肠和回肠上段粘膜表面大量繁殖，粘附于微绒毛，导致刷状缘被破坏、微绒毛萎缩、上皮细胞排列紊乱和功能受损，造成严重腹泻。

EPEC 粘附和破坏肠粘膜结构的步骤有三：①Bfp（bundle forming pili）介导菌与细胞的疏松粘附，Bfp 由 EAF（EPEC adherence factor）质粒上的 bfpA 基因编码和受 dsbA 基因的调控使之活化；②信号传递，由染色体上的 eaeB（*E. coli* attachment B）基因介导，eaeA 基因受 per（plasmid encoded regulator）基因产物而活化；③紧密粘附素（intimin）介导菌与细胞的紧密结合。紧密粘附素由染色体上 eaeA 基因编码，它是一种外膜蛋白。在此最末阶段，细胞内肌动蛋白重排，导致微绒毛的破坏。严重干扰对肠道中液体等的吸收功能。

EPEC 对细胞的粘附有两种类型。局限性粘附指病菌呈块状粘附在肠粘膜细胞表面的某一部分，弥散性粘附是病菌主要是单个分散粘附在细胞表面。由于两者在生物学特

征、致病特点等方面存在较大差异，有学者建议称弥散粘附的EPEC为EPEC Ⅱ型或弥散粘附型大肠埃希菌（diffusely adherent *E*. *coli*，DAEC）。

肠出血型大肠埃希菌（enterohemorrhagic *E*. *coli*，EHEC）亦称为Vero毒素大肠埃希菌（verotoxigenic *E*. *coli*，VTEC）。1982年首先在美国发现，其血清型为0157：H7。侯后世界各地有散发或地方小流行，1996年日本大阪地区发生流行，患者逾万，死亡11人。5岁以下儿童易感染，感染菌量可低于100个。症状轻重不一，可为轻度水泻至伴剧烈腹痛的血便。约10%<10岁患儿可并发有急性肾衰竭、血小板减少、溶血性贫血的溶血性尿毒综合征（hemolytic uremic syndrome，HUS），死亡率达10%左右。

EHEC的致病因子主要有菌毛和毒素。病菌进入消化道后，由紧密粘附素介导与宿主末端回肠、盲肠和结肠上皮细胞结合，然后释放毒素，引起血性腹泻。该毒素能使Vero细胞产生病变，故称Vero毒素（VT）；又因与志贺菌的毒素相似，亦称志贺样毒素（shiga-like toxin，SLT）；实则Vero毒素和SLT之间仅1个氨基酸不同，有学者认为EHEC的Vero毒素即志贺毒素（shiga toxin，ST）。EHEC的VT分两型，VT-Ⅰ与痢疾志贺菌的ST基本相同，VT-Ⅱ则与ST有60%的同源。两型毒素均由溶原性噬菌体介导。VT由1个A亚单位和5个B亚单位组成。B亚单位与宿主细胞特异糖脂（globotriaosylceramide）结合；A亚单位内在化后裂解成两个分子，其中A1片段与28SrRNA的4324位腺嘌呤作用，使核糖体灭活，终止蛋白质合成。HUS在产生VT-Ⅱ

三、微生物学检查法

标本 肠外感染采取中段尿、血液、脓液、脑脊液等；腹泻则取粪便。

分离培养与鉴定

1. 肠外感染。

（1）涂片染色检查：除血液标本外，均需作涂片染色检查。脓、痰、分泌物可直接涂片，革兰染色后镜检。尿液和其它液体先低速离心，再取沉淀物作涂片。

（2）分离培养：血液接种肉汤增菌，待生长后再移种血琼脂平板。体液标本的离心沉淀物和其它标本直接划线分离于血琼脂平板。35～37℃孵育18～24h后观察菌落形态。

（3）鉴定：初步鉴定根据IMViC（＋＋－－）试验，最后鉴定根据系列生化反应。尿路感染尚需计数菌落量，每ml≥10万才有诊断价值。

2. 肠内感染 将粪便标本接种于鉴别培养基，挑选可疑菌落并鉴定为大肠埃希菌后，再分别检测不同类型致腹泻大肠埃希菌的肠毒素、毒力因子和血清型等特征。

（1）ETEC：过去用动物或细胞培养测定LT或ST，较为复杂；现可用ELISA法或基因探针检测这些肠毒素。

（2）EIEC：与志贺菌相似，多数EIEC无动力，乳糖不发酵或迟缓发酵。毒力试验可将被检菌液接种于豚鼠眼结膜囊内，可产生典型的角膜结膜炎症状，并在角膜上皮细胞内有大量细菌，是为Senery试验阳性。

（3）EPEC：用特异O、H抗血清测定特异血清型，亦可以ELISA和细胞培养法来检测。

（4）EHEC：O157∶H7血清型多数对山梨醇不发酵或缓慢发酵。VT毒素可用ELISA法测定，灵敏度达60pg/ml，亦可用PCR法结合基因探针检测VT基因。

（5）EAggEC：用液体培养-集聚试验（liquid-culture clump aggregation）检测受检菌的粘附性，或用探针技术测定EAST基因。

四、防治原则

在ETEC的免疫预防研究中，发现其菌毛抗原在自然感染和人工主动免疫中是关键抗原之一。在家畜中，用菌毛疫苗防治新生畜崽腹泻已获得成功。例如在孕牛产前6个月接种大肠埃希菌K99株的菌毛抗原，则新生牛犊吮乳后可被动获得特异菌毛抗体而受到同型菌毛型大肠埃希菌感染的免疫保护。

现已明确，有的牛群肠道中可以存在EHEC。因此，加热不彻底而被牛粪污染的牛肉、牛奶，以及果汁等都可能罹患出血性结肠炎。例如美国多次EHEC流行，传染源是汉堡包中污染EHEC的牛肉馅。

第二节 志贺菌属

志贺菌属（*Shigella*）是人类细菌性痢疾最为常见的病原菌，俗称痢疾杆菌

(dysentery bacterium)。

一、生物学性状

大小为0.5~0.7×23μm的短小杆菌（图9-2）。无芽孢。无鞭毛。有菌毛。

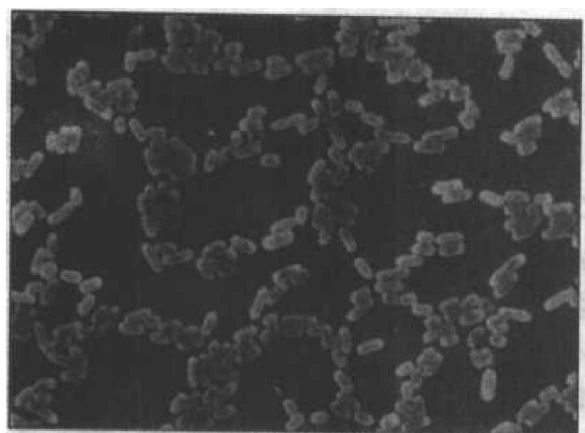


图9-2 福氏志贺菌

扫描电镜 ×2 400（谢念铭提供）

营养要求不高，在普通琼脂平板上生长形成中等大小、半透明的光滑型菌落。志贺菌属中的宋内菌常出现扁平的粗糙型菌落。

分解葡萄糖，产酸不产气。除宋内志贺菌个别菌株迟缓发酵乳糖（一般需3~4天）外，均不分解乳糖。

志贺菌属细菌有O和K两种抗原。O抗原是分类的依据，分群特异抗原和型特异抗原，藉以将志贺菌属分为4群（种）40余血清型（包括亚型）（表9-2）。K抗原在分类上无意义。

表9-2 志贺菌属的抗原分类

菌 种	群 型	亚 型
痢疾志贺菌	A 1~10	8a，8b，8c
福氏志贺菌	B 1~6，x，y变型	1a，1b，2a，2b，3a，3b，3c，4a，4b
鲍氏志贺菌	C 1~18	
宋内志贺菌	D 1	

A群：即痢疾志贺菌（*S. dysenteriae*）。有10个血清型，其中8型尚可分3个亚型。

B群：即福氏志贺菌（*S. flexneri*）。有13个血清型（包括变型和亚型），各型间有交叉反应。

C群：即鲍氏志贺菌（*S. boydii*）。有18个血清型。

D群：即宋内志贺菌（*S. sonnei*）。抗原单一，只有1个血清型。宋内志贺菌有Ⅰ相和Ⅱ相两个交叉变异相。Ⅰ相呈S型菌落，对小鼠有致病力，多自急性期感染病人标

本中分离得。Ⅱ相为R型菌落，对小鼠不致病，常从慢性患者或带菌者检出。Ⅰ相抗原受控于一个140MD的大质粒，若质粒丢失，Ⅰ相抗原不能合成，菌则从有毒的Ⅰ相转变为无毒的Ⅱ相。

二、致病性与免疫性

致病物质 主要是侵袭力和内毒素，有的菌株尚产生外毒素。

1. 侵袭力 志贺菌有菌毛，能粘附于回肠末端和结肠粘膜的上皮细胞。继而穿入上皮细胞内生长繁殖，一般在粘膜固有层内繁殖形成感染灶，引起炎症反应。细菌侵入血流罕见。

志贺菌穿透上皮细胞的能力由质粒编码的ipaB，ipaC和ipaD基因介导，病菌在邻近细胞的扩散则由质粒编码的icsA和icsB基因控制。志贺菌只有侵入肠粘膜后才能致病。否则，即使菌量再大也不引起疾病。

2. 内毒素 志贺菌所有菌株都有强烈的内毒素。内毒素作用于肠粘膜，使其通透性增高，进一步促进对内毒素的吸收，引起发热、神志障碍，甚至中毒性休克等一系列症状。内毒素破坏肠粘膜，可形成炎症、溃疡，呈现典型的脓血粘液便。内毒素尚能作用于肠壁植物神经系统，使肠功能发生紊乱，肠蠕动失调和痉挛。尤其是直肠括约肌痉挛最明显，因而出现腹痛、里急后重等症状。

3. 外毒素 A群志贺菌Ⅰ型和Ⅱ型能产生一种外毒素称为志贺毒素（shiga toxin, ST)。ST能引起Vero细胞病变，故亦称Vero毒素（Vero toxin，VT)。VT分VT-Ⅰ和VTⅡ两种，A群志贺菌产生的ST属VT-Ⅰ型。ST具有3种生物学活性：①肠毒素性。具有类似大肠埃希菌、霍乱弧菌肠毒素的作用，此可解释疾病早期出现的水样腹泻；②细胞毒性。对人肝细胞、HeLa细胞、绿猴Vero细胞均有毒性，以HeLa细胞最为敏感；③神经毒性。注射于家兔或小鼠，引起动物麻痹、死亡。

ST由位于染色体上的stxA和stxB基因编码。与EHEC产生的毒素相同，ST亦由1个A亚单位和5个B亚单位组成。B亚单位与宿主细胞糖脂（Gb3）结合，导入细胞内的A亚单位作用于60S核糖体亚单位的28SrRNA，阻止与氨酰tRNA的结合，致使蛋白质合成中断。

志贺菌侵入宿主后，机体内的IL-1、IL6、TNF-α和INF-γ等细胞因子将增多。IL-1和TNF-α可提高ST受体在内皮细胞表面的表达，因而内皮细胞成为ST攻击的主要靶细胞。ST和内毒素有协同作用，两者在体外可加重对人血管内皮细胞的损伤。在志贺菌感染的溶血性尿毒综合征（HUS）等并发症中，ST和内毒素的持续存在联合作用可能与之有关。

志贺菌的粘附、侵袭、胞内繁殖、细胞间扩散等活性编码的基因，均存在于一个140MD的大质粒上。这个大质粒一旦丢失，有毒株就成无毒株。

所致疾病 志贺菌引起细菌性痢疾。传染源是病人和带菌者，无动物宿主。主要通过粪-口传播。人类对志贺菌较易感，少至200个菌就可发病。

志贺菌随饮食进入肠道，潜伏期一般1～3d。痢疾志贺菌感染患者病情较重，宋内

志贺菌多引起轻型感染，福氏志贺菌感染易转变为慢性，病程迁延。

志贺菌感染有急性和慢性两种类型，病程在两个月以上者属慢性。急性细菌性痢疾常有发热、腹痛、里急后重等症状，并脓血粘液便。若及时治疗，预后良好。如治疗不彻底，可转为慢性。症状不典型者，易被误诊，影响治疗而造成慢性和带菌。急性感染中有一种中毒性痢疾，以小儿为多见。无明显的消化道症状，主要表现为全身中毒症状。此因其内毒素致使微血管痉挛、缺血和缺氧，导致 DIC、多器官功能衰竭、脑水肿，死亡率高。各型志贺菌都有可能引起。

免疫性 志贺菌感染局限于肠粘膜层，一般不入血，故其抗感染免疫主要是消化道粘膜表面的分泌型 IgA（SIgA)。病后免疫期短，也不巩固，除菌停留在肠壁局部外，其型别多也是原因之一。

三、微生物学检查法

标本 取材应挑取粪便的脓血或粘液部分。若不能及时送检，宜将标本保存于30%甘油缓冲盐水或专门运送培养基内。中毒性痢疾患者可取肛拭。

分离培养与鉴定 标本接种于肠道鉴别或选择培养基上，37℃孵育18～24h。挑取无色半透明可疑菌落，作生化反应和血清学试验，以确定其菌群（种）和菌型。

毒力试验 测定志贺菌的侵袭力可用 Senery 试验。系将受试菌18～24h的固体培养物，以生理盐水制成9亿/ml 菌悬液，接种于豚鼠眼结膜囊内。若发生角膜结膜炎，则 Senery 试验阳性，表明受试菌有侵袭力。志贺菌 ST 的测定，可用 HeLa 细胞或 Vero 细胞，也可用 PCR 技术直接检测其产毒基因 stxA、stxB。

快速诊断法

1. 免疫染色法 将粪便标本与志贺菌抗血清均匀，在光镜下观察有无凝集现象。

2. 免疫荧光菌球法 将标本接种于含有荧光素标记的志贺菌免疫血清液体培养基中，37℃孵育4～8h。若标本中含有相应型别的志贺菌存在，则生长繁殖后与荧光抗体凝集成小球，在荧光显微镜下易被检出。

3. 协同凝集试验 是以志贺菌 IgG 抗体与 Cowan Ⅰ 葡萄球菌结合成为试剂，用来检测病人粪便中有无志贺菌可溶性抗原。

4. 乳胶凝集试验 用志贺菌抗血清致敏乳胶，使与粪便中的志贺菌抗原起凝集反应。也可用志贺菌抗原致敏乳胶，来诊断粪便中有无志贺菌抗体。

5. 分子生物学方法 PCR 技术、基因探针检测 140MD 的大质粒等。

四、防 治 原 则

鉴于志贺菌的免疫防御机制主要是分泌至肠粘膜表面的 SIgA，而 SgA 需由活菌作用于粘膜局部才能诱发。因此，接种死疫苗防御志贺菌感染的试验已经放弃，现致力于活疫苗的研究。例如链霉素依赖株（streptomycin dependent strain，Sd）活疫苗是一种变异株，环境中存在有链霉素时始能生长繁殖。将其制成活疫苗给志愿者口服后因正常人体内不存在链霉素，该 Sd 株不能生长繁殖；但也不立即死亡，尚可有一定程度的侵

袭志愿者肠粘膜而激发局部免疫应答，产生 SIgA。同时，血清中的 IgM、IgG 特异抗体也增多。Sd 活疫苗的免疫保护具有特异性。目前已能产生多价志贺菌 Sd 活疫苗。又多种杂交株活疫苗也在研究之中。如将志贺菌的大质粒导入另一弱毒或无毒菌中，形成二价减毒活疫苗。曾被选为研究对象的有宋内志贺菌与伤寒沙门菌 Ty2la 的杂交疫苗等。

治疗志贺菌感染的药物颇多，但菌很易出现多重耐药菌株。同一菌株可对 5～6 种甚至更多药物耐药，给防治工作带来很大困难。

第三节　沙门菌属

沙门菌属（*Salmonella*）是一群寄生在人类和动物肠道中，生化反应和抗原结构相关的革兰阴性杆菌。根据生化反应，DNA 同源性等，沙门菌属分为肠道沙门菌（*S. enterica*）和邦戈沙门菌（*S. bongori*）两个种。肠道沙门菌又分为 6 个亚种，即肠道亚种（subsp. *enterica*）、萨拉姆亚种（subsp. *salamae*）、亚利桑那亚种（subsp. *arizanae*）、双亚利桑那亚种（subsp. *diarizonae*）、豪顿亚种（subap. *houtenae*）和英迪加亚种（subsp. *indica*）。

沙门菌属细菌的血清型在 2000 种以上，但对人致病的只是少数，例如引起肠热症的伤寒、副伤寒的沙门菌。其他对动物的致病，有些沙门菌偶可传染给人，引起食物中毒或败血症，如鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌、鸭沙门菌、猪霍乱沙门菌等十余种。

一、生物学性状

大小 0.6～1.0×2～4μm（图 9-3）。除鸡沙门菌和雏沙门菌（*S. pullorum*）等个别外，都有周身鞭毛。一般无荚膜。均无芽孢。

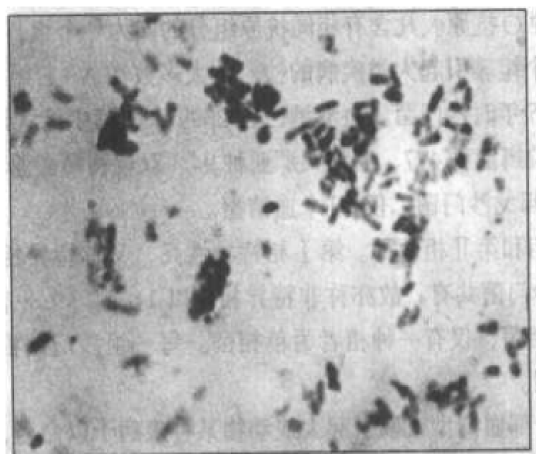


图 9-3　伤寒沙门菌（×1 000）

营养要求不高，在普通琼脂平板上形成中等大小、无色半透明的 S 型菌落。

不发酵乳糖或蔗糖。对葡萄糖、麦芽糖和甘露糖发酵，除伤寒沙门菌不产气外，其它沙门菌均产酸产气。生化反应对沙门菌属的种和亚种鉴定有重要意义（表 9-3）。

图 9-3　区别沙门菌属的种和亚种的主要生化试验

试　　验	肠道沙门菌						邦戈沙门菌
	肠道亚种	萨拉姆亚种	亚利桑那亚种	双亚利桑那亚种	豪顿亚种	英迪加亚种	
β半乳糖苷酶	−	−	+	+	−	d	+
明胶水解	−	+	+	+	+	+	−
半乳糖醛酸发酵	−	+	−	+	+	+	+
KCN 生长	−	−	−	−	+	−	+
丙二酸利用	−	+	+	+	−	−	−
卫矛醇发酵	+	+	−	−	−	d	+
粘液酸酶发酵	+	+	+	d	−	+	+
d 酒石酸盐	+	−	−	−	−	−	−
γ谷氨酰转移酶	+	+	−	+	+	+	+
β葡萄糖苷酸酶	d	d	−	+	−	d	−
水杨苷发酵	−	−	−	−	+	−	−
山梨醇发酵	+	+	+	+	+	−	+

+：>90%菌株阳性；−：>90%菌株阴性；d：某些菌株阳性

沙门菌属细胞的抗原主要有 O 和 H 两种抗原，少数菌中尚有一种表面抗原，功能上与大肠埃希菌的 K 抗原类同。因一般认为它与毒力（virulence）有关，故称 Vi 抗原。

沙门菌 O 抗原至少有 58 种，以阿拉伯数字顺序排列，现已排至 67（其中有 9 种被删除）。每个沙门菌的血清型含一种或多种 O 抗原。凡含有相同抗原组分的归为一个组，则可将沙门菌属分成 A～Z、O51～O63、O65～O67 42 个组。引起人类疾病的沙门菌大多数在 A～E 组。

据 Popoff 等报道，1995 年时沙门菌属血清型已有 2399 个，其中绝大部分分布在肠道沙门菌各亚种：计肠道亚种 1416。萨拉姆亚种 477、亚利桑那亚种 94、双亚利桑那亚种 371、豪顿亚种 66 和英迪加亚种 10 个血清型。至于邦戈沙门菌，仅 19 个血清型。

沙门菌 O 抗原分第Ⅰ相和第Ⅱ相两种。第Ⅰ相特异性高，又称特异相，以 a、b、c……表示。第Ⅱ相特异性低，可为多种沙门菌共有，故亦称非特异相，以 1、2、3……表示。一个菌株同时有第Ⅰ相和第Ⅱ相 H 抗原的称双相菌，仅有一种相者为单相菌。每一组沙门菌根据 H 抗原不同，可进一步将组内沙门菌分成不同菌型。

肠道沙门菌肠道亚种全部血清型或以引起人或动物某种疾病予以命名，如伤寒沙门菌、鼠伤寒沙门菌；或以首次分离出该菌株的城镇、地区或国家而命名，如上海沙门菌、伦敦沙门菌、巴拿马沙门菌。肠道沙门菌其他亚种和邦戈沙门菌中各血清型，则皆以抗原式表示，如 9，12:a:1，5（9，12 为 O 抗原；a 为第Ⅰ相 H 抗原；1，5 为第Ⅱ相 H 抗原）。

沙门菌的表面抗原主要是 Vi 抗原，新分离的伤寒沙门菌和希氏沙门菌（原称丙型副伤寒沙门菌，*S. paratyphi* C）有 Vi 抗原。Vi 抗原由聚-N-乙酸-D-半乳糖氨糖醛酸组成，不稳定，经 60℃ 加热、石炭酸处理或传代培养后易消失。Vi 抗原存在于菌表面，可阻止 O 抗原与其相应抗体的凝集反应。

常见的沙门菌的抗原组成见表9-4。

表9-4　常见沙门菌的抗原组分

组	菌名	O抗原	H抗原	
			第1相	第2相
A组	甲型副伤寒沙门菌（*S. paratyphi* A）	1, 2, 12	a	-
B组	肖氏沙门菌（*S. schottmuelleri*）	1, 4, 5, 12	b	1, 2
	斯坦利沙门菌（*S. stanley*）	4, 5, 12	d	1, 2
	德尔卑沙门菌（*S. derby*）	1, 4, 12	f, g	-
	鼠伤寒沙门菌（*S. typhimurium*）	1, 4, 5, 12	i	1, 2
	海登堡沙门菌（*S. heidelberg*）	4, 5, 12	r	1, 2
C1组	希氏沙门菌（*S. hirschfeldii*）	6, 7, Vi	c	1, 5
	猪霍乱沙门菌（*S. cholerae-suis*）	6, 7	c	1, 5
	孔成道夫沙门菌（*S. kunzondolf*）	6, 7	-	1, 5
	汤卜逊沙门菌（*S. thompson*）	6, 7	k	1, 5
	波斯坦沙门菌（*S. potsdam*）	6, 7	l, v	e, n, z15
C2组	纽波特沙门菌（*S. newport*）	6, 8	e, h	1, 5
	病牛沙门菌（*S. bovis-morbificans*）	6, 8	r	1, 5
D组	仙台沙门菌（*S. sandai*）	1, 9, 12	a	1, 5
	伤寒沙门菌（*S. typhi*）	9, 12, Vi	d	-
	肠炎沙门菌（*S. enteritidis*）	1, 9, 12	g, m	-
	都伯林沙门菌（*S. dublin*）	1, 9, 12	g, p	-
	鸡沙门菌（*S. gallinarum*）	1, 9, 12	-	-
E1组	鸭沙门菌（*S. anatum*）	3, 10	e, h	1, 6
	火鸡沙门菌（*S. meleagridis*）	3, 10	e, h	1
E2组	纽因顿沙门菌（*S. newington*）	3, 15	e, h	1, 6
E3组	山夫顿堡沙门菌（*S. senftonberg*）	1, 3, 19	g, s, t	-
F组	阿伯丁沙门菌（*S. aberdeen*）	11	i	1, 2

二、致病性与免疫性

致病物质　沙门菌有较强的内毒素，并有一定的侵袭力。个别菌尚能产生肠毒素。

1. 侵袭力　沙门菌有毒株能侵袭小肠粘膜。菌经一类称为M（microfold，微皱褶）细胞的特殊上皮细胞进入机体。其步骤是菌先粘附至M细胞表面；引发细胞肌动蛋白重排、内在化，菌存在于吞噬泡；吞噬泡转送未经降解的菌并释放至上皮下区，菌为固有层中的巨噬细胞吞噬。沙门菌的粘附和穿入宿主细胞，由染色体上的侵袭素基因inv介导。

伤寒沙门菌和希氏沙门菌在宿主体内可以形成 Vi 抗原。该抗原具有微荚膜功能，能抗御吞噬细胞的吞噬和杀伤，并阻挡抗体、补体等破坏菌体作用。

2. 内毒素　沙门菌死亡后释放出的内毒素，可引起宿主体温升高、白细胞数下降，大剂量时导致中毒症状和休克。这些与内毒素的激活补体替代途径产生 C3a、C5a 等，以及诱发免疫细胞分泌 TNT-α、IL-1、IFN-γ 等细胞因子有关。

3. 肠毒素　个别沙门菌如鼠伤寒沙门菌可产生肠毒素，其性质类似 ETEC 产生的肠毒素。

所致疾病　只对人类致病的仅有引起伤寒和副伤寒的沙门菌。有不少沙门菌是人畜共患病的病原菌。动物宿主范围很广。家畜有猪、牛、马、羊、猫、狗等，家禽有鸡、鸭等；野生动物如狮、熊、鼠类，以及冷血动物、软体动物、环形动物、节肢动物等均可带菌。人类因食用患病或带菌动物的肉、乳、蛋或被病鼠尿污染的食物等而罹患。

人类沙门菌感染有 4 种类型：

1. 肠热症　包括伤寒沙门菌引起的伤寒，以及甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌（原称乙型副伤寒沙门菌，*S. paratyphi B*）、希氏沙门菌引起的副伤寒。伤寒和副伤寒的致病机制和临床症状基本相似，只是副伤寒的病情较轻，病程较短。沙门菌是胞内寄生菌。被巨噬细胞吞噬后，由耐酸应答基因（acid tolerance response gene，atr）介导使菌能在吞噬体的酸性环境中生存和繁殖，同时菌产生过氧化氢酶和超氧化物歧化酶等保护菌勿受胞内杀菌机制的杀伤。部分菌通过淋巴液到达肠系膜淋巴结大量繁殖后，经胸导管进入血流引起第一次菌血症。病人出现发热、不适、全身疼痛等前驱症状。菌随血流进入肝、脾、肾、胆囊等器官并在其中繁殖后，再次人血造成第二次菌血症。该时症状明显，持续高热，出现相对缓脉，肝脾肿大，全身中毒症状显著，皮肤出现玫瑰疹，外周血白细胞明显下降。胆囊中菌通过胆汁进入肠道，一部分随粪便排出体外，另一部分再次侵入肠壁淋巴组织，使已致敏的组织发生超敏反应，导致局部坏死和溃疡，严重的有出血或肠穿孔并发症。肾脏中的病菌可随尿排出。以上病变在疾病的第 2～3 周出现。若无并发症，自第 2～3 周后病情开始好转。

2. 胃肠炎（食物中毒）　是最常见的沙门菌感染，约占 70%。由摄入大量（> 10^8）鼠伤寒沙门菌、猪霍乱沙门菌、肠炎沙门菌等污染的食物引起。潜伏期 6～24h。起病急，主要症状为发热、恶心、呕吐、腹痛、水样泻，偶有粘液或脓性腹泻。严重者伴迅速脱水，可导致休克、肾功能衰竭而死亡，此大多发生在婴儿、老人和身体衰弱者。一般沙门菌胃肠炎多在 2～3d 自愈。

3. 败血症　多见于儿童和免疫力低下的成人。病菌以猪霍乱沙门菌、希氏沙门菌、鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌等常见。症状严重，有高热、寒战、厌食和贫血等。败血症因病菌侵入血循环引起，因而菌可随血流导致脑膜炎、骨髓炎、胆囊炎、心内膜炎等发生。

4. 无症状带菌者　约有 1%～5% 伤寒或副伤寒患者，在症状消失后 1 年仍可在其粪便中检出有相应沙门菌。这些菌留在胆囊中，成为人类伤寒和副伤寒病原菌的储存场所。其他沙门菌的带菌者很少，不到 1%，故在人类的感染中不是主要的传染源。

免疫性　肠热症沙门菌侵入宿主后，主要在细胞内生长繁殖，因而要彻底杀灭这类

胞内寄生菌，特异性细胞免疫是主要防御机制。在致病过程中，沙门菌亦可有存在于血流和细胞外的阶段，故特异性体液抗体也有辅助杀菌作用。胃肠炎的恢复与肠道局部产生 SIgA 有关。

三、微生物学检查法

标本 肠热症因病程不同采取不同标本。第 1 周取外周血，第 1～3 周取骨髓液，第 2 周起取粪便和尿液。胃肠炎取粪便、呕吐物和可疑食物。败血症取血液。

分离培养与鉴定 血液和骨髓液需要增菌，然后再划种于血琼脂平板；粪便和经离心的尿沉淀物等直接接种于肠道鉴别培养基或 SS（Salmonella-Shigella）选择培养基。37℃孵育 24h 后，挑取无色半透明的乳糖不发酵菌落接种至双糖或三糖铁培养基。若疑为沙门菌，再继续作系列生化反应，并用沙门菌多价抗血清作玻片凝集试验予以确定。

近有学者采用 SPA 协同凝集试验、对流免疫电泳、乳胶凝集试验和 ELISA 法等，来快速早期诊断粪便、血清或尿液中的沙门菌等可溶性抗原。

分子生物学技术也可用于沙门菌感染的诊断中。基因探针可检出标本中的伤寒沙门菌量需 1000 个；而 PCR 法对 10 个伤寒沙门菌就可检出。

在流行病学调查和传染源追踪中，Vi 噬菌体分型则是一种常用方法。标准 Vi 噬菌体有 33 个型，其特异性比血清学分型更为专一。

血清学诊断 肠热症由伤寒沙门菌和甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌、希氏沙门菌所引起，病程长。因目前使用抗生素普遍，肠热症的症状常不典型，临床标本阳性分离率低，故血清学试验仍有其协助诊断意义。用于肠热症的血清学试验有肥达（Widal）试验、间接血凝法、ELISA 法等，其中肥达试验仍较普及。

肥达试验是用已知伤寒沙门菌菌体（O）抗原和鞭毛（H）抗原，以及引起副伤寒的甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌和希氏沙门菌 H 抗原的诊断菌液与受检血清作试管或微孔板凝集试验，测定受检血清中有无相应抗体及其效价的试验。

肥达试验结果的解释必须结合临床表现、病程、病史，以及地区流行病学情况。

1. **正常值** 人们因沙门菌隐性感染或预防接种，血清中可含有一定量的有关抗体，且其效价随地区而有差异。一般是伤寒沙门菌 O 凝集效价≥1∶80，H 凝集效价≥1∶160，引起副伤寒的沙门菌 H 凝集效价≥1∶80 时才有诊断价值。

2. **动态观察** 有时单次效价增高不能定论，可在病程中逐周复查。若效价逐次递增或恢复期效价比初次≥4 倍者始有意义。

3. **O 与 H 抗体的诊断意义** 患伤寒或副伤寒后，O 与 H 在体内的消长情况不同。IgM 类 O 抗体出现较早，持续约半年，消退后不易受非伤寒沙门菌等病原体的非特异刺激而重现。IgG 类 H 抗体则出现较晚，持续时间长达数年，消失后易受非特异性病原刺激而能短暂地重新出现。因此，O、H 凝集效价均超过正常值，则肠热症的可能性大；如两者均低，患病可能性小；若 O 不高 H 高，有可能是预防接种或非特异性回忆反应；如 O 高 H 不高，则可能是感染早期或与伤寒沙门菌 O 抗原有交叉反应的其他沙门菌（如肠炎沙门菌）感染。

4. 其他　有少数病例，在整个病程中，肥达试验始终在正常范围内。其原因可能由于早期使用抗生素治疗，或患者免疫功能低下等所致。

伤寒不同病期血、粪、尿中的病原菌和特异性 O 凝集素的检出阳性率见图 9-4。

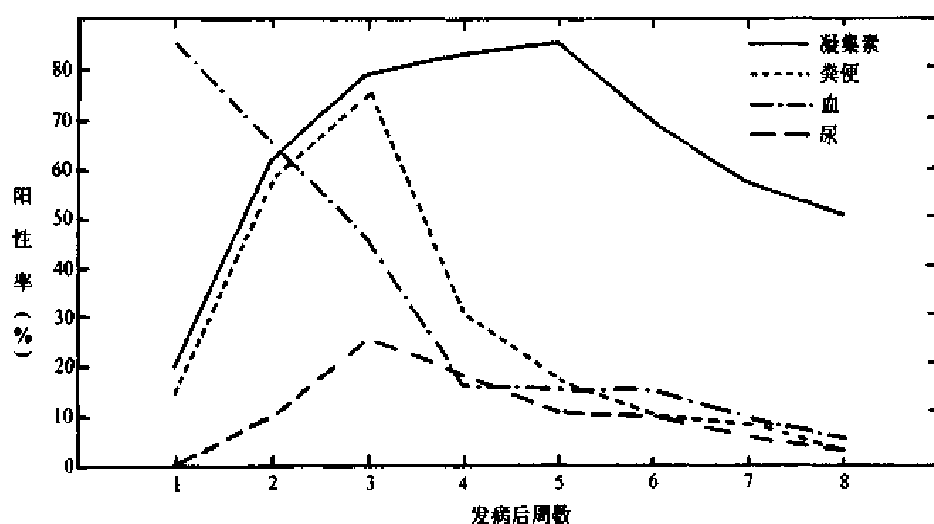


图 9-4　伤寒病人不同病期血、粪、尿中病原菌和特异凝集素的检出阳性率

伤寒带菌者的检出　分离出病原菌是最可靠的方法。标本采取可疑者粪便、肛拭、胆汁或尿液，但检出率不高。一般可先用血清学方法检测可疑者 Vi 抗体效价，若≥1∶10 时，再反复取粪便等标本进行分离培养，以确定是否为伤寒带菌者。

四、防 治 原 则

伤寒、副伤寒的免疫预防，过去一直沿用皮下接种死疫苗。虽有一定的保护作用，但效低、副反应大，不够理想。

减毒口服活疫苗是研究方向。目前以伤寒沙门菌 Ty21a 活疫苗较好。伤寒菌 Ty21a 株系尿苷二磷酸半乳糖-4-差向异构酶缺失株（gal E 突变株）。由于酶的缺陷，在半乳糖存在时虽能合成有免疫原性的细胞壁 LPS；但同时因半乳糖中间产物的堆积，阻碍代谢过程的完成，致使细菌生长停顿渐趋死亡。此可解说为何 Ty21a 菌在接种者体内能够短期生存，诱发免疫应答的原因。经志愿者试验，口服 Ty21a 活疫苗后，粪便中排菌仅一天，表明该菌在人体内不能持续生长繁殖。用有毒株攻击，攻击菌很快被排出，提示经口服免疫后的肠道已产生阻止病菌粘附的功能。又经现场试验，Ty21a 活疫苗安全、副反应小，接种者有显著免疫防护作用，有效期至少 3 年。

第四节　其 他 菌 属

一、克雷伯菌属

克雷伯菌属（*Klebsiella*）有 5 个种：肺炎克氏菌（*K. pneumoniae*）、催娩克氏菌（*K.*

axytoca）、解鸟氨酸克氏菌（*K. ornithinolytica*）、植生克氏菌（*K. planticola*）和土生克氏菌（*K. terrigena*）。其中肺炎克氏菌又可分 3 个亚种：肺炎亚种（subsp. *pneumoniae*）、鼻炎亚种（subsp. *azaenae*）和鼻硬结亚种（subsp. *rhinoscleromatis*）。

肺炎克氏菌肺炎亚种，亦称 Friedländer 杆菌，俗称肺炎杆菌。革兰阴性。大小 0.5～0.8×1～2/μm，球杆形，常端端成对排列。无鞭毛。有较厚的荚膜。多数菌株有菌毛。营养要求不高，在普通培养基上生长的菌落大，呈粘液状，相互融合，以接种环挑之易拉成丝，此特征有助于鉴别。有O抗原和K抗原，后者是分型的依据。肺炎克氏菌有 80 多个型。肺炎亚种大多属于 3、12 型；臭鼻亚种几乎全为 4 型，少数 5 或 6 型；鼻硬结亚种多数为 3 型。

肺炎克氏菌肺炎亚种存在于人类肠道、呼吸道以及水和谷物。当机体免疫力降低或长期大量使用抗生素导致菌群失调时引起感染。常见有肺炎、支气管炎、泌尿道和创伤感染，有时引起严重的败血症、脑膜炎、腹膜炎等。目前是除大肠埃希菌外的医源性感染中最重要条件致病菌。

肺炎克氏菌臭鼻亚种，俗称臭鼻杆菌。能引起慢性萎缩性鼻炎，侵犯鼻咽部，使组织发生坏死。

二、变形杆菌属

变形杆菌属（*Proteus*）有 4 个种：普通变形杆菌（*P. vulgaris*）、奇异变形杆菌（*P. mirabilis*）、产粘变形杆菌（*P. myxofaciens*）和潘氏变形杆菌（*P. permeri*）。

革兰阴性。大小 0.4～0.6×1～3μm。有明显多形性，可为球状或丝状。无荚膜。幼龄培养物中有周身鞭毛，运动活泼。有菌毛，可粘附至植物和真菌细胞表面，但不能与动物或人类细胞粘附。营养要求不高。在固体培养基上呈扩散性生长，形成以菌接种部位为中心的厚薄交替、同心圆型的层层波状菌苔，称为迁徙生长现象（swarming growth phenomenon），其原因不明。若在培养基中加入 0.1%石炭酸、0.4%硼酸或 4%乙醇，或将琼脂浓度增加至 5%，则抑制鞭毛生长，迁徙现象消失，形成一般的菌落。能迅速分解尿素，是本菌属的一个重要特征。个别菌株发酵乳糖。

变形杆菌属根据菌体抗原分群，再以鞭毛抗原分型，现至少有 100 多个血清型。普通变形杆菌 X_{19}、X_2 和 X_k 菌株含有的菌体O抗原，可与斑疹伤寒立克次体和恙虫病立克次体的部分抗原发生交叉反应，故可用以代替立克次体作为抗原与患者血清进行凝集反应。此称为外斐试验（Weil-Felix test），以辅助诊断有关的立克次体病。现证明变形杆菌与立克次体间抗原的相同部分是其耐热、耐稀碱的组分。

变形杆菌在自然界分布很广，存在于土壤、污水和垃圾中，人和动物的肠道也经常存在。在肠道中一般不致病。

奇异变形杆菌和普通变形杆菌是仅次于大肠埃希菌的泌尿道感染的主要病原菌。其尿素酶可分解尿素产氨，使尿液 pH 增高，碱性环境有利于变形杆菌的生长。肾结石和膀胱结石的形成可能与变形杆菌感染有关。有的菌株尚可引起脑膜炎、腹膜炎、败血症和食物中毒等。潘氏变形杆菌偶从临床标本中分离到，是引起医院感染的病原菌。产粘变形杆菌尚未从人类感染中分离出。

三、摩根菌属

摩根菌属（*Morganella*）只有摩氏摩根菌（*M. morganii*）一个种。

形态、染色和生化反应特征与变形杆菌相似，但无迁徙现象。以枸橼酸盐阴性、硫化氢阴性和鸟氨酸脱羧酶阳性为其特征。

摩氏摩根菌可致泌尿道感染和伤口感染，有时可引起腹泻。

四、枸橼酸杆菌属

枸橼酸杆菌属（*Citrobacter*）有3个种：弗劳地枸橼酸杆菌（*C. freundii*）、异型枸橼酸杆菌（*C. diversus*）和无丙二酸盐枸橼酸杆菌（*C. amalonaticus*）。后又增加了一个无丙二酸盐枸橼酸杆菌生物1群（*C. amalonaticus biogroup 1*）

革兰阴性杆菌。周身鞭毛。无芽孢。无荚膜。营养要求不高。菌落呈灰白色、湿润、隆起、边缘整齐，直径2～4mm。乳糖发酵，产生硫化氢。

枸橼酸杆菌广泛存在于自然界，是人和动物肠道的正常菌群，也是条件致病菌。弗劳地枸橼酸杆菌引起胃肠道感染，德国报道有的菌株产生Vero毒素，曾暴发出血性肠炎流行，并有HUS并发。异型枸橼酸杆菌可引起新生儿脑膜炎和败血症。无丙二酸盐枸橼酸杆菌偶可自粪便标本中分离到。有时枸橼酸杆菌与产黑色素类杆菌等革兰阴性无芽孢厌氧菌合并感染。

五、肠 杆 菌 属

肠杆菌属（*Enterobacter*）有11个种：产气肠杆菌（*E. aerogenes*）、阴沟肠杆菌（*E. cloacae*）、杰高维肠杆菌（*E. gergoviae*）、坂崎肠杆菌（*E. sakazakii*）、泰洛肠杆菌（*E. taylorae*）、河生肠杆菌（*E. amnigenus*）、中间肠杆菌（*E. intermedius*）、阿氏肠杆菌（*E. asburiae*）、致癌肠杆菌（*E. cancerogenus*）、溶解肠杆菌（*E. dissolvens*）、和超压肠杆菌（*E. nimipressualis*）。

革兰阴性粗短杆菌。周身鞭毛。无芽孢。有的菌株有荚膜。营养要求不高，在普通琼脂平板上形成湿润、灰白或黄色的粘液状大菌落。发酵乳糖，不产生硫化氢。

肠杆菌属是肠杆菌科中最常见的环境菌群，但不是肠道的常居菌群。是条件致病菌。

产气肠杆菌和阴沟肠杆菌常可从临床标本中分离到，与泌尿道、呼吸道和伤口感染有关，偶引起败血症和脑膜炎。一般不引起腹泻。

杰高维肠杆菌可引起泌尿道感染，从呼吸道和血液中亦曾分离出。

坂崎肠杆菌引起的新生儿脑膜炎和败血症，死亡率可高达75%左右。

泰洛肠杆菌可从血液和脑脊液分离出；阿氏肠杆菌亦曾从血液、粪便、尿液、呼吸道分泌液和伤口渗出液等标本中分离到。

六、沙 雷 菌 属

沙雷菌属（*Serratia*）有6个种和1个群：粘质沙雷菌（*S. marcescens*）、深红沙雷菌（*S. rubidace*）、臭味沙雷菌（*S. oderifera*）、普城沙雷菌（*S. plymuthica*）、无花果沙雷菌（*S. ficaria*）和虫媒沙雷菌（*S. etomophila*），以及沙雷菌液化群（*S. liquefaciens group*）。

革兰阴性小杆菌。周身鞭毛。臭味沙雷菌有微荚膜，其他菌种无。无芽孢。粘质沙雷菌是细菌中最小的，常用于检查滤菌器的除菌效果。营养要求不高。菌落不透明，白色、红色或粉红色。色素有两种。灵菌红素（prodigiosin）非水溶性，不扩散；吡羧酸（pyrimine）为水溶性、能扩散的粉红色色素。

沙雷菌可自土壤、水、人和动物的粪便中分离到。长期来认为对人体无害。近发现粘质沙雷菌可引起肺炎、泌尿道感染、败血症，以及外科术后感染；臭味沙雷菌与医院感染败血症有关；普城沙雷菌亦可致败血症。

（陆德源）

第10章 弧 菌 属

弧菌属（*Vibrio*）细菌是一大群菌体短小，弯曲成弧形的革兰阴性菌，本菌属与肠杆菌科的主要不同点是氧化酶试验阳性（麦契尼可夫弧菌除外）和有一根位于菌体一端的单鞭毛。弧菌属细菌广泛分布于自然界，以水中最多。本菌属目前有36个种，其中至少有12个种与人类感染有关，尤以霍乱弧菌，副溶血性弧菌最为重要。

第一节 霍 乱 弧 菌

霍乱弧菌（*V. cholerae*）是引起烈性传染病霍乱的病原体，二千多年前已有记载。自1817年以来，已发生过7次世界性霍乱大流行，前6次均由霍乱弧菌古典生物型引起，1961年开始的第7次大流行由霍乱弧菌El Tor生物型引起。1992年一个新的流行株O139（Bengal）在沿孟加拉湾的印度和孟加拉一些城市出现，并很快传遍亚洲，这是首次由非O1群霍乱弧菌引起的流行。

一、生物学性状

形态与染色 霍乱弧菌菌体大小为0.5～0.8×1.5～3μm。从病人新分离出的细菌形态典型，呈弧形或逗点状（图10-1）。但经人工培养后，细菌常呈杆状而不易与肠道杆菌区别。革兰染色阴性。特殊结构有菌毛，无芽胞，有些菌株（包括O139）有荚膜，

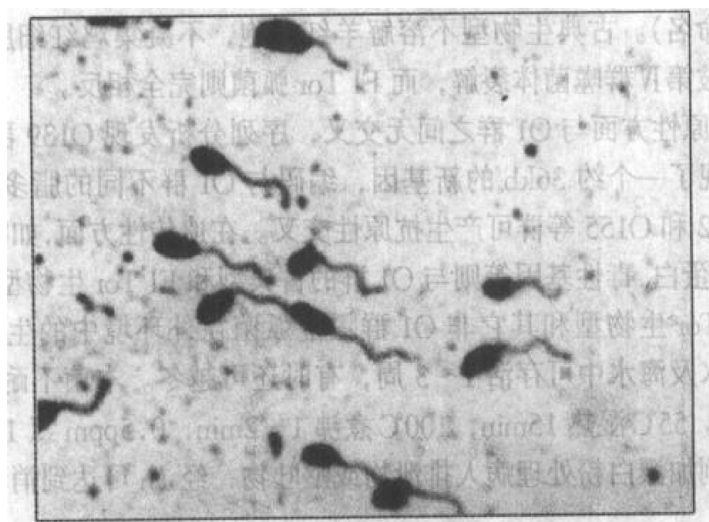


图10-1 霍乱弧菌
（鞭毛染色 ×1 500）

在菌体一端有一根单鞭毛。若取病人米泔水样粪便或培养物作悬滴观察，细菌运动非常活泼，呈穿梭样或流星状。

培养特性与生化反应 兼性厌氧，营养要求不高。生长繁殖的温度范围广（18～37℃），故可在外环境中生存。耐碱不耐酸，在 pH8.8～9.0 的碱性蛋白胨水或碱性琼脂平板上生长良好，因其它细菌在此 pH 中不易生长，故初次分离霍乱弧菌常用碱性蛋白胨水增菌。霍乱弧菌可在无盐环境中生长，而其它致病性弧菌则不能。霍乱弧菌为过氧化氢酶阳性，氧化酶阳性，能发酵很多常见的单糖、双糖和醇糖，如葡萄糖、蔗糖和甘露醇，产酸不产气；不分解阿拉伯胶糖；能还原硝酸盐，吲哚反应阳性。

抗原结构与分型 霍乱弧菌有耐热的O抗原和不耐热的H抗原。根据O抗原不同，现已有 155 个血清群，其中 O1 群、O139 群引起霍乱，其余的血清群分布于地面水中，可引起人类胃肠炎等疾病，但从未引起霍乱的流行。H抗原无特异性，免疫扩散试验表明所有霍乱弧菌拥有相同的H抗原。

O1 群霍乱弧菌根据其菌体抗原由 3 种抗原因子 A、B、C 组成，又可分为 3 个血清型：小川型（Ogawa）、稻叶型（Inaba）、和彦岛型（Hikojima）（表 10-1）。

表 10-1 霍乱弧菌 O1 群血清型

血清型（抗原组分）	O1 多克隆抗体	O1 单克隆抗体			出现频率	造成流行
		A	B	C		
小川型（AB）	+	+	+	−	常见	是
稻叶型（AC）	+	+	−	+	常见	是
彦岛型（ABC）	+	+	+	+	极少见	未知

"+" 凝集；"−" 不凝集

根据表型差异，O1 群霍乱弧菌的每一个血清型还可分为 2 个生物型，即古典生物型（classical biotype）和 El Tor 生物型（El Tor biotype，因在埃及西奈半岛 El Tor 检疫站首次分离出而命名）。古典生物型不溶解羊红细胞，不凝集鸡红细胞，对 50IU 的多粘菌素敏感，可被第Ⅳ群噬菌体裂解，而 El Tor 弧菌则完全相反。

O139 群在抗原性方面与 O1 群之间无交叉，序列分析发现 O139 群失去了 O1 群的 O抗原基因，出现了一个约 36kb 的新基因，编码与 O1 群不同的脂多糖抗原和荚膜多糖抗原，但与 O22 和 O155 等群可产生抗原性交叉。在遗传性方面，如核糖型，限制性酶切电泳图谱，外膜蛋白，毒性基因等则与 O1 群的古典型和 El Tor 生物型的流行株相似。

抵抗力 El Tor 生物型和其它非 O1 群霍乱弧菌在外环境中的生存力较古典型为强，在河水、井水及海水中可存活 1～3 周，有时还可越冬。本菌不耐酸，在正常胃酸中仅能存活 4min。55℃湿热 15min，100℃煮沸 1～2min，0.5ppm 氯 15min 能杀死霍乱弧菌。以 1:4 比例加漂白粉处理病人排泄物或呕吐物，经 1h 可达到消毒目的。

二、致 病 性

致病物质 霍乱弧菌的致病物质涉及到染色体上多个基因，它们主要包括由 ToxR

蛋白调控的 ctxA、ctxB、tcp、zot、ace 等基因，另外还有二个不受 ToxR 蛋白调控的毒力因子基因 hlyA 和 hap。

1. 霍乱肠毒素　是目前已知的致泻毒素中最为强烈的毒素，是肠毒素的典型代表。由一个 A 亚单位（分子量为 27.2kDa）和 5 个相同的 B 亚单位（每个亚单位分子量为 11.7kDa）构成的一个热不稳定性多聚体蛋白，分别由结构基因 ctx（cholera toxin）A 和 ctxB 编码。ctxAB 操纵子位于染色体上称作核心区的部位，核心区的两端为重复序列（RS1）。霍乱弧菌古典生物型染色体上广泛散布着以 2 拷贝 ctx 为一组的 CTX 单元。El Tor 生物型染色体上 CTX 则为多拷贝随机分布。B 亚单位可与小肠粘膜上皮细胞 GM1 神经节苷脂受体结合，介导 A 亚单位进入细胞，A 亚单位在发挥毒性作用前需经蛋白酶作用裂解为 A1 和 A2 两条多肽。A1 作为腺苷二磷酸核糖基转移酶可使 NAD（辅酶 I）上的腺苷二磷酸核糖转移到 G 蛋白上，称 G_S，G_S 的活化可使细胞内 cAMP 水平升高，主动分泌 Na^+、K^+、HCO_3^- 和水，导致严重的腹泻与呕吐。

此外，在 ctx 操纵子上游还存在两个编码毒性相关的 zot（zonula occludens toxin，小带联结毒素）、ace（accessory cholera enterotoxin）基因。在实验兔中，其编码产物 Zot 能增加肠粘膜的通透性；Ace 使结扎的回肠段中液体聚积。志愿者口服 ctxAB 缺失的基因工程变异株产生的轻度腹泻可能与这二个毒性基因有关。

2. 鞭毛、菌毛及其它毒力因子　霍乱弧菌活泼的鞭毛运动有助于细菌穿过肠粘膜表面粘液层而接近肠壁上皮细胞。细菌的普通菌毛是细菌定植于小肠所必须的因子。只有粘附定植后方可致病。与此相关基因有 acf 和 tcpA。acf（accessory colonization factor）编码粘附素；tcpA（toxin coregulated pilus A）编码菌毛蛋白中一个分子量为 20.5kDa 的重要亚单位。实验发现使 tcp 失活后，变异株即失去定植功能和致泻特性。其他毒力因子还有 hlyA（hemolytic-cytolytic A）基因编码的具有溶血-溶细胞的蛋白；hap（hemagglutinin/protease）基因编码的有助于细菌从死亡细胞上解离的血凝素/蛋白酶。

O139 群除具有上述 O1 群的致病物质和相关基因外，还存在多糖荚膜和特殊 LPS 毒性决定簇，其功能是抵抗血清中杀菌物质和能粘附到小肠粘膜上，不表达 LPS 决定簇和荚膜的 TnphoA 突变株则对血清易感。

所致疾病　引起烈性肠道传染病霍乱，为我国的甲类法定传染病。在自然情况下，人类是霍乱弧菌的唯一易感者。在地方性流行区，除病人外，无症状感染者也是重要传染源。传播途径主要是通过污染的水源或食物经口摄入，人与人之间的直接传播不常见。在正常胃酸条件下，需要进入大量的细菌（10^8）方能引起感染，但当胃酸低时，感染剂量可减少到 $10^3 \sim 10^5$ 个细菌。病菌到达小肠后，粘附于肠粘膜表面并迅速繁殖，不侵入肠上皮细胞和肠腺，细菌在繁殖过程中产生肠毒素而致病。O1 群霍乱弧菌感染可从无症状或轻型腹泻到严重的致死性腹泻，霍乱弧菌古典生物型所致疾病较 El Tor 生物型严重。典型病例一般在吞食细菌后 2～3d 突然出现剧烈腹泻和呕吐，在疾病最严重时，每小时失水量可高达 1L，排出如米泔水样腹泻物。由于大量水分和电解质丧失而导致失水，代谢性酸中毒，低碱血症和低容量性休克及心力不齐和肾衰竭，如未经治疗处理，病人死亡率高达 60%，但若及时给病人补充液体及电解质，死亡率可小于

1%。O139 群霍乱弧菌感染比 O1 群严重，表现为严重脱水和高死亡率，又成人病例所占比例较高（70%），而 O1 群霍乱弧菌流行高峰期，儿童病例约占 60%。

病愈后一些患者可短期带菌，一般不超过 2 周，个别 El Tor 型病例病后可带菌长达数月或数年之久。病菌主要存在于胆囊中。

三、免 疫 性

对 O1 群霍乱弧菌感染的研究和历次霍乱流行的观察，表明感染霍乱弧菌后，机体可获得牢固免疫力，再感染少见。病人发病数月后，血液中和肠腔中可出现保护性的抗肠毒素抗体及抗菌抗体，抗肠毒素抗体主要针对霍乱毒素 B 亚单位，抗菌抗体主要针对 O 抗原。肠腔中的 SIgA 可凝集粘膜表面的病菌，使其失去动力；可与菌毛等粘附因子结合，阻止霍乱弧菌粘附至肠粘膜上皮细胞；可与霍乱肠毒素 B 亚单位结合，阻断肠毒素与小肠上皮细胞受体作用。霍乱弧菌引起的肠道局部粘膜免疫是霍乱保护性免疫的基础。

感染 O139 群的病人大多为成年人，表明以前感染 O1 群获得的免疫对 O139 群感染无交叉保护作用。O139 群感染后的免疫应答与 O1 群基本一致。家兔肠道结扎实验和小鼠攻击实验证明，O139 群的保护性免疫以针对脂多糖和荚膜多糖的抗菌免疫为主，抗毒素免疫为辅。O1 群的脂多糖 O 抗原与 O139 群存在显著差异，且还缺少荚膜多糖表面抗原，故其引起的免疫不能交叉保护 O139 群的感染。

四、微生物学检查法

霍乱是烈性传染病，对首例病人的病原学诊断应快速、准确，并及时作出疫情报告。

标本 病人粪便，肛拭；流行病学调查还包括水样。霍乱弧菌不耐酸和干燥。为避免因粪便发酵产酸而使病菌死亡，标本应及时培养或放入 Cary-Blair 保存液中运输；肠道病原菌常用的甘油盐水缓冲保存液不适宜。

直接镜检 革兰染色阴性弧菌，悬滴法观察细菌呈穿梭样运动有助于诊断。

分离培养 常将标本首先接种至碱性蛋白胨水增菌，37℃孵育 6～8h 后直接镜检并作分离培养。目前常用的选择培养基为 TCBS，该培养基含有硫代硫酸盐、枸橼酸盐、胆盐及蔗糖，霍乱弧菌因分解蔗糖呈黄色菌落。挑选可疑菌落进行生化反应及与 O1 群多价和单价血清作玻片凝集反应。目前还需与 O139 群抗血清作凝集反应。其它分离培养基还有碱性平板、血平板和 TTGA 培养基等。

五、防 治 原 则

改善社区环境，加强水源管理；培养良好个人卫生习惯，不生食贝壳类海产品等是预防霍乱弧菌感染和流行的重要措施。

疫苗预防长期以来使用 O1 群霍乱弧菌死疫苗肌肉注射，虽可增强人群的特异性免疫力，但保护力仅为 50%左右，且血清抗体持续时间较短，仅为 3～6 个月。在认识到

肠道局部免疫对霍乱预防起主要作用后，目前霍乱疫苗预防的重点已转至研制口服疫苗的方向，包括B亚单位-全菌灭活口服疫苗、基因工程减毒活疫苗（用基因工程技术去除O1群霍乱弧菌野生株DNA中大部分毒力基因的活疫苗）、带有霍乱弧菌几个主要保护性抗原的基因工程疫苗等。其中前两种疫苗已进行过大规模人群试验，对其有效保护率和保护时间正在进行评估，且在某些国家已获准使用。O139群尚无预防性疫苗，候选疫苗正在研制中，思路是制成包括预防O1群和O139群霍乱弧菌感染的二价菌苗。

及时补充液体和电解质，预防大量失水导致的低血容量性休克和酸中毒是治疗霍乱的关键。抗生素的使用可减少外毒素的产生，加速细菌的清除。用于霍乱的抗菌药物有四环素、强力霉素、呋喃唑酮、氯霉素和复方SMZ-TMP等。但带有多重耐药质粒的菌株在增加；且O139群的耐药性强于O1群，给治疗带来一定困难。

第二节　副溶血性弧菌

副溶血性弧菌（*V. parahemolyticus*）于1950年从日本一次暴发性食物中毒中分离发现。该菌存在于近海的海水、海底沉积物和鱼类、贝壳等海产品中。根据菌体O抗原不同，现已有13个血清群。主要引起食物中毒，尤以日本、东南亚、美国及我国台北地区多见，也是我国大陆沿海地区食物中毒中最常见的一种病原菌。

生物学特性　同其它引起人类感染的弧菌一样，该菌与霍乱弧菌的一个显著差别是嗜盐（halophilic），在培养基中以含3.5%NaCl最为适宜，无盐则不能生长，但当NaCl浓度高于8%时也不能生长。在盐浓度不适宜的培养基中，细菌呈长杆状或球杆状等多形态。不耐热，90℃ 1min即被杀死；不耐酸，1%醋酸或50%食醋中1min死亡。

副溶血性弧菌在普通血平板（含羊、兔或马等血液）上不溶血或只产生α溶血。但在特定条件下，某些菌株在含高盐（7%）的人O型血或兔血及以D-甘露醇作为碳源的我妻（Wagatsuma）琼脂平板上可产生β溶血，称为神奈川现象（Kanagawa phenomenon，KP）。日本学者检测了3370株副溶血性弧菌，来自病人的菌株中96.5%为KP^+，而来自海产品及海水的菌株仅1%阳性。

致病性　引起食物中毒的确切致病机制尚待阐明。KP^+菌株为致病性菌株基本肯定。现已从KP^+菌株分离出二种致病因子，其一为耐热直接溶血素（thermostable direct hemolysin，TDH），动物实验表明具有细胞毒和心脏毒两种作用。其基因为双拷贝（tdh1和tdh2），KP实验中的溶血现象即由tdh2位点决定。最近的研究还表明，tdh基因家族也广泛存在于人类致病性弧菌中，如大多数霍利斯弧菌菌株（*V. hollisae*），某些拟态弧菌菌株（*V. mimicus*）中有tdh基因，非O1群霍乱弧菌中也存在同源性约为93%～96%的tdh相关基因，提示该基因与致病关系密切。另一个致病因子为耐热相关溶血素（thermostable related hemolysin，TRH），生物学功能与TDH相似，其基因与tdh同源性为68%。

其它致病物质可能还包括粘附素和粘液素酶。

该菌引起的食物中毒系经烹饪不当的海产品或盐腌制品所传播。常见的为海蜇、海

鱼、海虾及各种贝类，因食物容器或砧板生熟不分污染本菌后，也可发生食物中毒。该病常年均可发生，潜伏期5～72h，平均24h，可从自限性腹泻至中度霍乱样病症，有腹痛、腹泻、呕吐和低热，粪便多为水样，少数为血水样，恢复较快，病后免疫力不强，可重复感染。

该菌还可引起浅表创伤感染、败血症等。

诊断与防治 标本采取患者粪便、肛拭或剩余食物，直接分离培养于SS琼脂平板或嗜盐菌选择平板。如出现可疑菌落，进一步作嗜盐性试验与生化反应，最后用诊断血清进行鉴定。最近已发展了基因探针杂交及PCR快速诊断法，可直接从原始食物标本或腹泻标本中检测耐热毒素基因。

治疗可用抗菌药物，如庆大霉素或复方SMZ-TMP，严重病例需输液和补充电解质。

（刘晶星）

第 11 章　厌氧性细菌

厌氧性细菌（anaerobic bacteira）是一群必须在无氧环境下，才能生长繁殖的细菌。根据能否形成芽胞，可将厌氧性细菌分为两大类：厌氧芽胞的梭菌属和无芽胞厌氧菌。

第一节　厌氧芽胞梭菌属

厌氧芽胞梭菌属（*Clostridum*）现分 4 组，有 118 个种。大多为严格厌氧菌，革兰染色阳性，能形成芽胞，芽胞直径比菌体粗，使菌体膨大呈梭状，故名。除产气荚膜梭菌等极少数例外，均有周身鞭毛，无荚膜。对热、干燥和消毒剂均有强大的抵抗力。主要分布于土壤、人和动物肠道。多数为腐生菌，其中不少菌株可用于生物技术工程，发酵产生商业和工业所需要的有机溶剂、酸类等；少数为致病菌，在适宜条件下，芽胞发芽形成繁殖体，产生强烈的外毒素，引起人类和动物疾病。在人主要引起破伤风、气性坏疽和肉毒中毒等严重疾病。此外，还与皮肤、软组织感染，抗生素相关的腹泻和肠炎有关。

一、破伤风梭菌

破伤风梭菌（*C. tetani*）是破伤风的病原菌，为外源性感染。当机体受到外伤，创口被污染，或分娩时使用不洁器械剪断脐带等，本菌均可侵入，发芽繁殖，释放毒素。发病后机体呈强直性痉挛、抽搐，可因窒息或呼吸衰竭死亡。据估计世界上每年约有 100 万病例发生，死亡率在 20% 左右。在发展中国家，新生儿破伤风死亡率可高达 90%。

生物学性状　菌体细长，0.5～1.7×2.1～18.1μm，有周身鞭毛、无荚膜。芽胞正圆，比菌体粗，位于菌体顶端，使细菌呈鼓槌状，为本菌典型特征（图 11-1）。革兰染色阳性，但培养 48h 后，尤其当形成芽胞时易转变为阴性。严格厌氧。在血平板上，37℃ 培养 48h 后始见薄膜状爬行生长物，伴 β 溶血。大多生化反应阴性，不发酵糖类，不分解蛋白质。芽胞通常经 75～80℃ 10min 仍保持活力，100℃ 1h 可完全被破坏，在干燥的土壤和尘埃中可存活数年。

致病性与免疫性　破伤风梭菌由伤口侵入人体引起破伤风。但在一般表浅伤口，病菌不能生长。其感染的重要条件是伤口需形成厌氧微环境：伤口窄而深（如刺伤），有泥土或异物污染；大面积创伤、烧伤，坏死组织多，局部组织缺血；同时有需氧菌或兼性厌氧菌混合感染的伤口，均易造成厌氧微环境，有利于破伤风梭菌繁殖。该菌无侵袭力，仅在局部繁殖，其致病作用完全有赖于病菌所产生的毒素。



图 11-1 破伤风梭菌（×2 000）

破伤风梭菌能产生两种外毒素，一种是对氧敏感的破伤风溶素（tetanolysin），其在功能上和抗原性与链球菌溶素 O 相似，但在致破伤风中的作用尚不清楚。另一种为质粒编码的破伤风痉挛毒素（tetanospasmin），是引起破伤风的主要致病物质。

破伤风痉挛毒素属神经毒（neurotoxin），毒性极强，仅次于肉毒毒素，腹腔注入小鼠的半数致死量（LD_{50}）为 0.015ng，对人的致死量小于 1μg。其化学性质为蛋白质，不耐热，65℃ 30min 即被破坏；亦可被肠道中存在的蛋白酶所破坏。

细菌最初合成的痉挛毒素为一条分子量约 150 000 的多肽，释出菌体时，即被细菌蛋白酶裂解为一条分子量约 50 000 的轻链（A 链）和一条 100 000 的重链（B 链），但轻链和重链间仍由二硫键连结在一起。重链通过其羧基端识别神经肌肉结点处运动神经元外胞浆膜上的受体并与之结合，促使毒素进入细胞内由细胞膜形成的小泡中。小泡从外周神经末梢沿神经轴突逆行向上，到达运动神经元细胞体，通过跨突触运动（trans-synaptic movement），小泡从运动神经元进入传入神经末梢，从而进入中枢神经系统。然后通过重链 N 端的介导产生膜的转位使轻链进入胞质溶胶。轻链为一种锌内肽酶（zinc endopeptidase），可裂解储存有抑制性神经介质（γ-氨基丁酸）小泡上膜蛋白特异性肽键，使小泡膜蛋白发生改变，从而阻止抑制性神经介质的释放，使肌肉活动的兴奋与抑制失调，造成麻痹性痉挛。破伤风痉挛毒素使神经系统中毒的主要机制可归纳为四步：①与神经系统的结合；②内在化作用；③膜的转位；④胞质溶胶中作用靶的改变。

破伤风潜伏期可从几天至几周，与原发感染部位距离中枢神经系统的长短有关。典型的症状是咀嚼肌痉挛所造成的苦笑面容及持续性背部痉挛（角弓反张）。其它早期症状还包括有漏口水、出汗和激动；因植物性神经系统功能紊乱，还可产生心率不齐、血压波动和因大量出汗造成的脱水。

破伤风免疫属外毒素免疫，主要是抗毒素发挥中和作用。破伤风痉挛毒素毒性很强，极少量毒素即可致病，而如此少量的毒素尚不足以引起免疫，且毒素与组织结合

后，也不能有效刺激免疫系统产生抗毒素，故一般病后不会获得牢固免疫力。获得有效抗毒素的途径是人工免疫。

微生物学检查法 伤口直接涂片镜检和病菌分离培养阳性率很低，故一般不进行。典型的症状和病史即可作出诊断。

防治原则

1. 正确处理创口及清创扩创，防止厌氧微环境的形成，是重要的非特异性防治措施。

2. 特异性预防一般以注射类毒素主动免疫为主。目前我国采用的是一种含有百日咳疫苗、白喉类毒素和破伤风类毒素的百白破三联制剂，对3～6个月的儿童进行免疫，可同时获得对这三种常见病的免疫力。免疫程序为婴儿出生后第3、4、5月连续免疫3次，2岁、7岁时各加强一次，以建立基础免疫。今后如有可能引发破伤风的外伤，立即再接种一针类毒素，血清中抗毒素滴度在几天内即可迅速升高。国外亦建议初次免疫后，每10年加强一次，可高效地预防破伤风的发生。

3. 对伤口污染严重而又未经过基础免疫者，可立即注射破伤风抗毒素（tetanus antitoxin，TAT）以获得被动免疫作紧急预防。剂量为1500～3000单位的纯化制品。注射TAT被动预防的同时，可给予类毒素同时作主动免疫。

4. 特异性治疗包括使用抗毒素和抗生素两方面。对已发病者应早期、足量使用TAT，一旦毒素与细胞受体结合，抗毒素就不能中和其毒性作用。剂量为10～20万单位，包括静脉滴注、肌肉注射和伤口局部注射。由于目前应用的TAT是用破伤风类毒素多次免疫马匹所获得的马血清纯化制剂，因此注射前，无论用于紧急预防还是治疗，都必须先作皮肤试验，测试有无超敏反应。必要时可采用脱敏注射法或用人抗破伤风免疫球蛋白。抗菌治疗可采用四环素，红霉素。

二、产气荚膜梭菌

产气荚膜梭菌（*C. perfringens*）广泛存在于土壤、人和动物肠道中，能引起人和动物多种疾病。其中A型是人类气性坏疽和食物中毒的主要病原菌。

生物学性状

1. 形态与染色 产气荚膜梭菌为两端几乎平切的革兰阳性粗大杆菌，0.6～2.4×3～19.0μm。芽胞位于次极端，呈椭圆形，不大于菌体，但在组织和普通培养基中很少形成。无鞭毛。在体内有明显的荚膜（图11-2）。

2. 培养特性 厌氧，但不十分严格。20～50℃均能旺盛生长，在其最适生长温度45℃时，繁殖周期仅为8min，有助于分离培养。在血琼脂平板上，多数菌株有双层溶血环，内环是由θ毒素引起的完全溶血，外环是由α毒素引起的不完全溶血。在卵黄琼脂平板上，菌落周围出现乳白色浑浊圈，若在培养基中加入α毒素的抗血清，则不出现浑浊。此现象称Nagler反应，为本菌的特点。前者是由细菌产生的卵磷脂酶（α毒素）分解卵黄中卵磷脂所致；后者因α毒素被抗毒素中和。本菌代谢十分活跃，可分解多种常见的糖类，产酸产气。在庖肉培养基中可分解肉渣中糖类而产生大量气体。在牛奶培

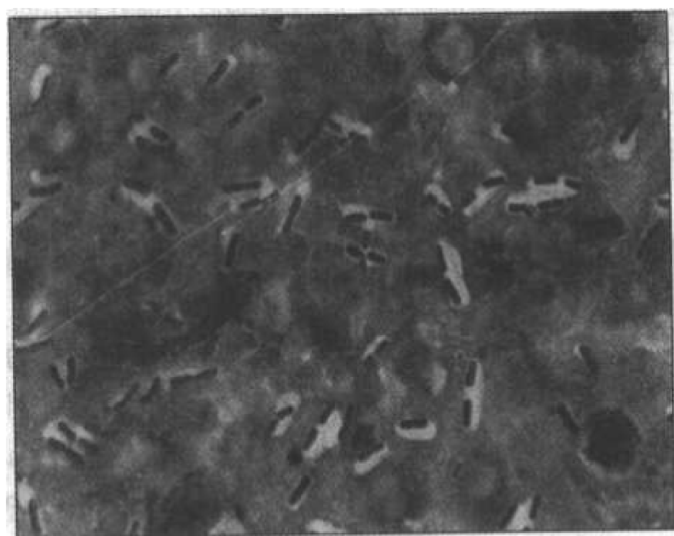


图 11-2 产气荚膜梭菌（×1 000）

养基中能分解乳糖产酸，使其中酪蛋白凝固；同时产生大量气体（H_2 和 CO_2），可将凝固的酪蛋白冲成蜂窝状，将液面封固的凡士林层上推，甚至冲走试管口棉塞，气势凶猛，称“汹涌发酵”（stormy fermentation）。

3. 分型 根据产气荚膜梭菌的 4 种主要毒素（α、β、ε、ι）产生情况，可将其分为 A、B、C、D、E 5 个毒素型。对人致病的主要为 A 型。A 型很容易从外环境中分离到，属人和动物肠道正常菌群。B-E 群在土壤中不能存活，主要寄生于动物肠道内。

致病性

1. 致病物质 产气荚膜梭菌能产生 10 余种外毒素，有些外毒素即为胞外酶（表 11-1）。

表 11-1 产气荚膜梭菌主要和次要毒素及其分型

毒 素	生物学作用	毒素分型				
		A	B	C	D	E
主要毒素						
α (alpha)	卵磷脂酶，增加血管通透性，溶血和坏死作用	+	+	+	+	+
β (beta)	坏死作用	−	+	+	−	−
ε (epsilon)	增加胃肠壁通透性	−	−	−	+	−
ι (iota)	坏死作用，增加血管通透性	−	−	−	−	+
次要毒素						
δ (delta)	溶血素	−	±	+	−	−
θ (theta)	溶血素，细胞毒素	±	+	+	+	+
κ (kappa)	胶原酶、明胶酶、坏死作用	+	+	+	+	+

续表

毒　素	生物学作用	毒素分型				
		A	B	C	D	E
λ (lambda)	蛋白酶	-	+	-	+	+
μ (mu)	透明质酸酶	±	+	±	±	±
ν (nu)	DNA 酶	±	+	+	±	±
神经氨酸酶	改变神经节苷脂受体	+	+	+	+	+
其它						
肠毒素	肠毒素、细胞毒素	+	nt	+	+	nt

+ 大多菌株产生；± 某些菌株产生；- 不产生；nt 未研究

4 种主要毒素中，α 毒素最重要，5 种毒素型均能产生，以 A 型产生量最大。能分解细胞膜上磷脂和蛋白形成的复合物，造成红细胞、白细胞、血小板和内皮细胞溶解，引起血管通透性增加伴大量溶血、组织坏死、肝脏、心功能受损、在气性坏疽的形成中起主要作用。β、ε、ι 只有部分型别能产生，引起坏死损伤和血管通透性增加。在次要毒素中、各型都有部分菌株能产生。

此外，很多 A 型菌株和少数 C、D 型菌株还能产生肠毒素，为不耐热的蛋白质，100℃瞬时被破坏。肠毒素经胰酶作用后，其毒力能增加 3 倍。其作用机制是整段肠毒素肽链嵌入细胞膜，破坏膜离子运输功能，改变膜的通透性，而引起腹泻。肠毒素主要作用于回肠，其次为空肠，对十二指肠基本无作用。近发现肠毒素还可作为超抗原，能大量激活外周 T 淋巴细胞并释放各种淋巴因子，参与致病作用。

2. 所致疾病

(1) 气性坏疽：60%～80%由 A 型引起，除产气荚膜梭菌外，至少还有 5 种其它梭菌也能引起。该病多见于战伤，但也见于平时的工伤、车祸等。致病条件与破伤风梭菌相同。

气性坏疽潜伏期短，一般仅为 8～48h，病菌除产生多种毒素外，体内形成的荚膜和繁殖周期短等特点，使该病发展迅速，病情险恶。如不及时治疗，常导致死亡。卵磷脂酶、胶原酶、透明质酸酶、DNA 酶等分解破坏作用，使病菌易穿过肌肉结缔组织间隙，侵入四周正常组织，发酵肌肉和组织中的糖类，产生大量气体，造成气肿；同时血管通透性增加，水份渗出，局部水肿，进而挤压软组织和血管，影响血液供应，造成组织坏死。严重病例表现为组织胀痛剧烈，水气夹杂，触摸有捻发感，最后产生大块组织坏死，并有恶臭。病菌产生的毒素和组织坏死的毒性产物被吸收入血，引起毒血症、休克，死亡率高达 40%～100%。此外，本菌也可经肠穿孔或子宫破裂进入腹腔引起内源性感染，消毒不严的人工流产术也可致子宫内膜炎。

(2) 食物中毒：产气荚膜梭菌食物中毒因食入被本菌大量（10^8～10^9 细菌繁殖体）污染的食物（主要为肉类食品）而引起，相当多见。潜伏期约 10h，临床表现为腹痛、腹胀、水样腹泻；无热、无恶心呕吐。1～2d后自愈。如不进行细菌学检查常难确

诊。

微生物学检查法 气性坏疽发展急剧，后果严重，应尽早作出细菌学报告。

1. 直接涂片镜检 这是极有价值的快速诊断法。从深部创口取材涂片，革兰染色，镜检见有革兰阳性大杆菌，白细胞甚少且形态不典型（因毒素作用，白细胞无趋化反应），并伴有其它杂菌等三个特点即可报告初步结果。早期诊断能避免病人最终截肢或死亡。

2. 分离培养与动物试验 取坏死组织制成悬液，接种血平板或庖肉培养基，厌氧培养，观察生长情况，取培养物涂片镜检，并用生化反应鉴定。必要时可取细菌培养液0.5～1ml静脉注射小鼠，10min后处死，置37℃经5～8h，如动物躯体膨胀，取肝或腹腔渗出液涂片镜检并分离培养。关于产气荚膜梭菌性食物中毒，如在发病后1d内，检出大于10^5病菌/g食品或10^6病菌/g粪便可确立诊断。

防治原则 伤口的及时处理，破坏和消除厌氧微环境，预防性的使用抗生素可预防大多数（90%）感染。对局部感染应尽早施行扩创手术，切除感染和坏死组织，必要时截肢以防止病变扩散。大剂量使用青霉素等抗生素以杀灭病原菌和其它细菌。有条件可使用α抗毒素和高压氧舱法治疗气性坏疽，后者可使血液和组织中的氧含量提高15倍，能部分抑制厌氧菌的生长。

三、肉毒梭菌

肉毒梭菌（*C. botulinum*）主要存在于土壤中，引起人和动物肉毒病，最常见的为肉毒中毒和婴儿肉毒病。

生物学特性 革兰阳性粗短杆菌，0.9×4～6μm，芽胞呈椭圆形，粗于菌体，位于次极端，使细胞呈汤匙状或网球拍状（图11-3）。有鞭毛，无荚膜。严格厌氧，可在普通琼脂平板上生长，能产生脂酶，在卵黄培养基上，菌落周围出现混浊圈。根据遗传特性分为Ⅰ～Ⅳ四组，根据神经毒素的抗原性分A～G 7个型。大多数菌株只产生一种型别毒素，各型毒素只能被同型抗毒素中和。Ⅰ、Ⅱ组可引起人类疾病，Ⅰ组多见，最主

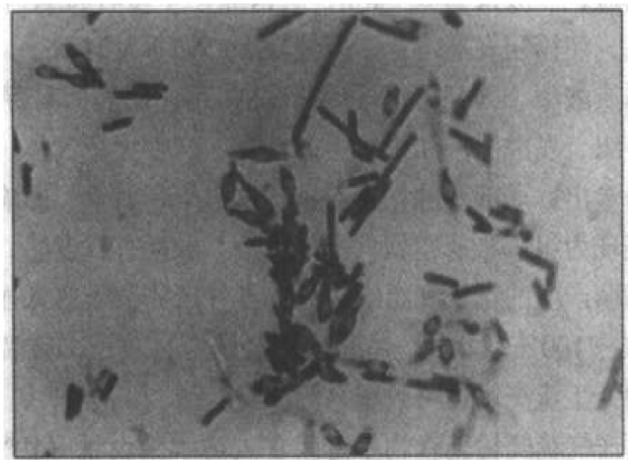


图11-3 肉毒梭菌（×1 000）

要的型别为 A、B 型，E、F 型偶见。我国报告大多为 A 型。Ⅰ组内肉毒梭菌对蛋白质有较强的分解能力，其形成的芽胞对热的抵抗力很强，可耐热 100℃ 1h 以上；Ⅱ组包括 E、B、F 型毒素的一些产生菌株，分解糖类能力强，不分解蛋白质，芽胞对热的抵抗力不如Ⅰ组。Ⅲ组包括产生 C、D 型毒素的菌株，主要引起鸟类肉毒病。Ⅳ组为产生 G 型毒素的菌株，(亦有专著由于第Ⅳ组 G 型毒素产生的菌株不引起肉毒病，而将其划分为三组 6 型)。肉毒毒素不耐热，煮沸 1min 即可被破坏。

致病性

1．致病物质　主要依靠其剧烈的神经外毒素。肉毒毒素是已知最剧烈的毒物，毒性比氰化钾强 1 万倍，小鼠经腹腔注入 LD_{50} 为 0.00625ng。纯结晶的肉毒毒素 1mg 能杀死 2 亿只小鼠，对人的致死量约为 0.1μg。肉毒毒素的结构、功能和致病机制与破伤风外毒素非常相似。前体和裂解后片段的大小也相当。主要不同点是：①肉毒毒素作用于外周胆碱能神经，抑制神经肌肉接头处神经介质乙酰胆碱的释放，导致弛缓性麻痹；②毒素经内化作用进入细胞内由细胞膜形成的小泡中，不象破伤风毒素从外周神经末梢沿神经轴突上行，而是留在神经肌肉接头处；③150kDa 的肉毒毒素前体分子在原始状态时是与一些非毒性蛋白形成一种大小不等的复合物，其沉降系数可分别为 7S、12S、16S 和 19S，复合物中的毒性分子可稳定存在于外环境和胃肠道。复合物进入小肠后，在碱性情况下解离，被吸收进入血循环；④只有 C 型和 D 型毒素是由噬菌体编码，其他型毒素均由染色体决定。

2．所致疾病

(1) 食物中毒：食品在制作过程中被肉毒梭菌芽胞污染，制成后未彻底灭菌，芽胞在厌氧环境中发芽繁殖，产生毒素，食前又未经加热烹调，食入已产生的毒素，发生食物中毒。该病是单纯性毒素中毒，而非细菌感染。

肉毒毒素引起的食物中毒在我国十几个省、区均有发现，新疆较多。引起食物中毒的食物国外以罐头、香肠、腊肠等制品为主；国内据新疆统计，由发酵豆制品（臭豆腐、豆瓣酱等）引起的占 80%以上，发酵面制品（甜面酱等）占 10%左右。在当前食品种类发生变化的情况下，也应对肉类食品的肉毒中毒保持警惕。

肉毒中毒的临床表现与其它食物中毒不同，胃肠道症状很少见，主要为神经末梢麻痹。潜伏期可短至数小时，先有一般不典型的乏力、头痛等症状，接着出现复视、斜视、眼睑下垂等眼肌麻痹症状；再是吞咽、咀嚼困难、口干、口齿不清等咽部肌肉麻痹

此外，亦有因肉毒梭菌感染伤口或手术改变了胃肠道环境的成人因肉毒梭菌定植而产生肉毒病的报道。

微生物学检查法 食物中毒患者可取粪便、剩余食物分离病菌，同时检测粪便、食物和病人血清中毒素活性。婴儿肉毒病取粪便分离病菌并检测毒素。粪便、食物等标本可先80℃加热10min，杀死标本中所有的细菌繁殖体，再用加热标本进行厌氧培养分离本菌。毒素检查可将培养物滤液或食物悬液上清分成两份，其中一份与抗毒素混合，然后分别注射小鼠腹腔，如果抗毒素处理小鼠得到保护表明有毒素存在。

防治原则 加强食品卫生管理和监督；个人防护包括低温保存食品，防止芽胞发芽；80℃加热食品20min破坏毒素。对病人应尽早根据症状作出诊断，迅速注射A、B、E三型多价抗毒素，同时加强护理和对症治疗，特别是维持呼吸功能，以显著降低死亡率。

四、艰难梭菌

艰难梭菌（*C. difficile*）作为新生儿肠道中正常菌群，发现于1935年，但直到1977年发现本菌与临床长期使用某些抗生素（氨苄青霉素、头孢菌素、红霉素、氯林可霉素等）引起的假膜性肠炎有关，方被重视。

生物学特性 革兰阳性粗大杆菌（图11-4），0.5～1.9×3.0～16.9μm。有鞭毛。有次极端卵圆形芽胞，芽胞在外环境可存活数周至数月。用环丝氨酸-甘露醇等特殊培养基可从粪便中分离到本菌，但成人粪便分离率很低。

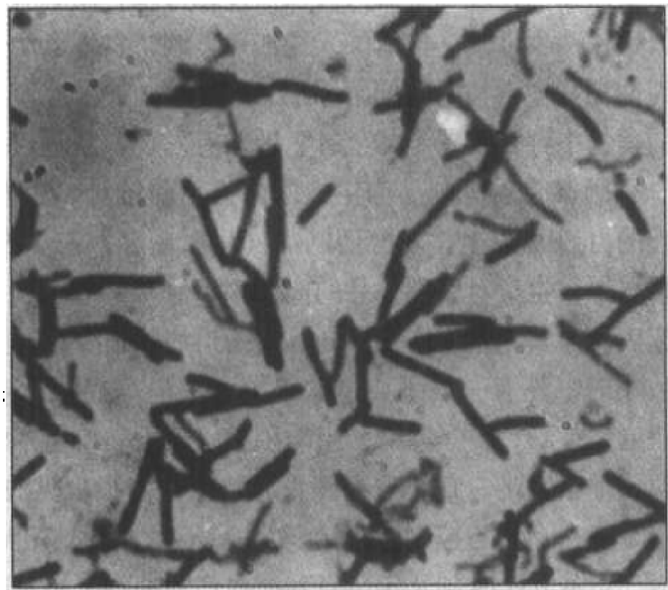


图11-4 艰难梭菌（×2 000）

致病性 产生A、B两种毒素，A为肠毒素，能趋化中性粒细胞浸润回肠肠壁，释放细胞因子，导致液体大量分泌和出血性坏死；毒素B为细胞毒素，能使肌动蛋白解聚，损坏细胞骨架，致细胞固缩坏死，直接损伤肠壁细胞。作为小部分人的正常菌群，因长期使用抗生素导致菌群失调后可引起内源性感染；在医院内，若易感人群增多，亦

可人-人间传播引起外源性感染。感染率15%～25%，但大多为无症状携带者。症状一般出现在抗生素治疗5～10d，水样腹泻。5%的病人可出现血水样腹泻，排出假膜，有发热、白细胞增多等全身中毒表现，严重者可危及生命。及时停用相关抗生素，改用本菌敏感的万古霉素或甲硝唑是主要治疗措施。由于芽胞不易被抗生素杀灭，复发率可达20%～30%。

第二节　无芽胞厌氧菌

无芽胞厌氧菌是一大类寄生于人和动物体内的正常菌群，包括革兰阳性和革兰阴性的球菌和杆菌。在人体正常菌群中厌氧菌占有绝对优势，是其它非厌氧性细菌（需氧菌和兼性厌氧菌）10～1000倍。例如在肠道菌群中，厌氧菌占99.9%，大肠埃希菌等只占0.1%。皮肤、口腔、上呼吸道、泌尿生殖道的正常菌群中80%～90%也是厌氧菌。在正常情况下，它们对人体无害；但在某些特定状态下，这些厌氧菌作为条件致病菌可导致内源性感染，甚至危及生命。对无芽胞厌氧菌有过长期研究，但直至近30年，随着厌氧培养技术的发展和抗厌氧菌药物的发现，其在临床上的重要性才被重新确立。

一、主要种类、性状与在感染中的作用

无芽胞厌氧菌共有23个属，其中与人类疾病相关的主要有10个属（表11-2）。

表11-2　与人类疾病相关的主要无芽胞厌氧菌

革兰阴性		革兰阳性	
杆菌	球菌	杆菌	球菌
类杆菌属 (*Bacteriodes*)	韦荣菌属 (*Veillonella*)	丙酸杆菌属 (*Propionibacterium*)	消化链球菌属 (*Peptostreptococus*)
普雷沃菌属 (*Prevotella*)		双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)	
紫单胞菌属 (*Porphyromonas*)		真杆菌属 (*Eubacterium*)	
梭杆菌属 (*Fusobacterium*)		放线菌属 (*Actinomyces*)	

革兰阴性厌氧杆菌　有8个属，类杆菌属中的脆弱类杆菌（*B. fragilis*）（图11-5）最为重要。占临床厌氧菌分离株的25%，类杆菌分离株的50%。其大小、形态呈多形性，有荚膜。梭杆菌菌体延伸成梭形，其余菌属形态都非常小。除类杆菌在培养基上生长迅速外，其余均生长缓慢，需3d以上。类杆菌有典型的革兰阴性菌细胞壁，但其脂多糖无内毒素活性，主要因其氨基葡糖残基上脂肪酸较少和缺乏磷酸基团之故。

革兰阴性厌氧球菌　有3个属，其中韦荣菌属最重要。直径0.3～0.5μm，成对、成簇或短链状排列。有7个种，3个与人有关。是咽喉部主要厌氧菌，但在临床厌氧菌分离标本中，分离率小于1%，且为混合感染菌之一。其他革兰阴性球菌极少分离到。

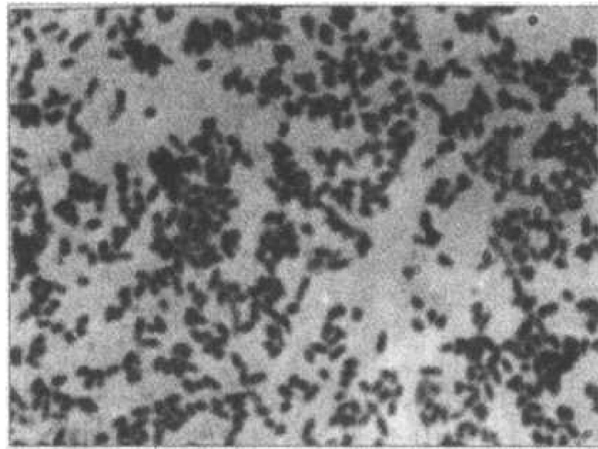


图 11-5 脆弱类杆菌（×1 000）

革兰阳性厌氧球菌 有 5 个属，21 个种。其中有临床意义的是消化链球菌属，主要寄居于阴道。在临床厌氧菌分离株中，占 20%～35%，为第 2 位，仅次于脆弱类杆菌，但大多亦为混合感染。厌氧菌菌血症仅 1% 由革兰阳性球菌引起，主要为本菌属，常因女性生殖道感染而引起。本菌属细菌生长缓慢，培养需 5～7d。

革兰阳性厌氧杆菌 有 7 个属。在临床厌氧菌分离株中，占 22%，其中 57% 为丙酸杆菌，23% 为真杆菌。

1. 丙酸杆菌属 小杆菌，常呈链状或成簇排列，无鞭毛，能发酵糖类产生丙酸。能在普通培养基上生长，时间需 2～5d。与人类有关的有 3 个菌种，痤疮丙酸杆菌（*P. acnes*）最为常见。

2. 双歧杆菌属 呈多形态，有分枝，无动力，严格厌氧，耐酸。目前共有 29 个种，其中 10 个种与人类有关。双歧杆菌在婴儿、成人肠道菌群中占很高比例，在婴儿尤为突出。该菌在大肠中起重要的调节作用，控制 pH，对抗外源致病菌的感染。只有齿双歧杆菌（*B. dentium*）与龋齿和牙周炎有关，但其致病作用仍不明确。其它种极少从临床标本中分离到。

3. 真杆菌属 单一形态或多形态，动力不定，严格厌氧，生化反应活泼，生长缓慢，常需培养 7d。目前有 45 个种，是肠道重要的正常菌群。17 个种与感染有关，但都出现在混合感染中，最常见的为迟钝真杆菌（*E. lentum*）。

二、致 病 性

致病条件 本类细菌是寄生于皮肤和粘膜上的正常菌群，成为条件致病菌后，引起的感染都为内源性感染。因此，适宜的感染条件很重要。除寄居部位改变，宿主免疫力下降和菌群失调等基本条件外，局部还应易于形成厌氧微环境，如有坏死或损伤的组织，局部血供障碍，有异物存在使局部 Eh 和氧分压下降等。

细菌毒力 无芽胞厌氧菌成为致病菌后，其毒力主要表现在下列几方面：①改变其对氧的耐受性，如类杆菌属很多菌种能产生出 SOD，以适应新的致病生态环境；②与

混合感染的需氧菌或兼性厌氧菌协同作用，表现在氧气的利用，营养的互补和降低对抗菌药物的敏感性；③通过菌毛、荚膜等表面结构吸附和侵入上皮细胞和各种组织；④产生多种毒素，胞外酶和可溶性代谢物，如脆弱类杆菌某些菌株产生的肠毒素、胶原酶、蛋白酶、纤溶酶、溶血素、DNA酶、透明质酸酶等；革兰阴性厌氧杆菌也有内毒素，但脂质A成分不同，毒性较弱。

感染特征　①内源性感染，感染部位可遍及全身，多呈慢性过程；②无特定病型，大多为化脓性感染，形成局部脓肿或组织坏死，也可侵入血流形成败血症；③分泌物或脓液粘稠，乳白色、粉红色、血色或棕黑色，有恶臭，有时有气体；④使用氨基糖苷类抗生素（链霉素、卡那霉素、庆大霉素）长期无效；⑤分泌物直接涂片可见细菌，但普通培养法无细菌生长。

所致疾病

1．败血症　由于抗厌氧菌抗生素的广泛运用，目前败血症中厌氧菌培养率只有5%左右，多数为脆弱类杆菌，其次为革兰阳性厌氧球菌。原发病灶约50%来自胃肠道，20%来自女性生殖道。病死率为15%～35%。

2．中枢神经系统感染　最常见的为脑脓肿，主要继发于中耳炎、乳突炎、鼻窦炎等邻近感染，亦可经直接扩散和转移而形成。分离的细菌种类与原发病灶有关，革兰阴性厌氧杆菌最为常见。

3．口腔与牙齿感染　大多起源于牙齿感染，主要包括三大类：齿槽脓肿和下颌骨髓炎；急性坏死性溃疡性齿龈炎（奋森咽峡炎）和约30%的牙周病。主要由消化链球菌、产黑素类杆菌和核梭杆菌（*F. nucleatum*）等引起。

4．呼吸道感染　厌氧菌可感染上下呼吸道的任何部位，如扁桃体周围蜂窝织炎、吸入性肺炎、坏死性肺炎、肺脓肿和脓胸等。厌氧菌的肺部感染发生率仅次于肺炎链球菌性肺炎。呼吸道感染中分离最多的厌氧菌为普雷沃菌属、坏死梭杆菌（*F. necrophorum*）、核梭杆菌、消化链球菌和脆弱类杆菌等。

5．腹部和会阴部感染　胃肠道因手术、损伤、穿孔及其它异常引起的腹膜炎、腹

出物或浓汁亦可。厌氧菌对氧敏感，标本采取后宜立刻放入特制的厌氧标本瓶中，并迅速送检。

直接涂片镜检 脓汁标本可直接涂片染色后观察细菌的形态特征、染色性及菌量多少，以供培养、判断结果时参考。

分离培养与鉴定 这是证实无芽胞厌氧菌感染的关键步骤。标本应立即接种到营养丰富、新鲜，含有还原剂的培养基或特殊培养基、选择培养基中，最常用的培养基是牛心脑浸液为基础的血平板。接种最好在厌氧环境中进行（如厌氧手套箱等)。接种后置于37℃厌氧培养2～3d，如无菌生长，继续培养至1周。挑取生长菌落接种两只血平板，分别置于有氧和无氧环境中培养，在两种环境中都能生长的是兼性厌氧菌，只能在厌氧环境中生长的才是专性厌氧菌。获得纯培养后，再经生化反应进行鉴定。

此外，利用气液相色谱检测细菌代谢终末产物能迅速作出鉴定，需氧菌和兼性厌氧菌只能产生乙酸，而检测出其它短链脂肪酸，如丁酸、丙酸则提示为厌氧菌。核酸杂交、PCR等分子生物学方法已可对一些重要的无芽胞厌氧菌作出迅速和特异性诊断。

四、防治原则

主要是避免正常菌群侵入其不应存在的部位以及防止局部出现厌氧微环境。对外科病人特别要注意清洗伤口，去除坏死组织和异物，引流，维持和重建局部良好的血液循环等。

95%以上临床厌氧菌包括脆弱类杆菌对氯霉素、亚胺硫霉素、氨苄青霉素、氧哌嗪青霉素、羧塞吩青霉素、甲硝唑等敏感，对头孢西丁也很敏感，其它如克林霉素、青霉素G等也可选用。万古霉素适用于所有革兰阳性厌氧菌感染。但越来越多抗性菌株的产生增加了治疗的难度，95%的菌株对青霉素有抗性。如厌氧菌感染中最常见的脆弱类杆菌能产生β-内酰氨酶，可破坏青霉素和头孢菌素，因此，对一些重要感染，如脑脓

第12章　放线菌属与诺卡菌属

放线菌是一大类微生物，大多数不致病。对人致病的放线菌可分含和不含分枝菌酸两类。含分枝菌酸的放线菌有诺卡菌属、分枝杆菌属和棒状杆菌属；不含分枝菌酸的有放线菌属。

放线菌属和诺卡菌属因能形成有分枝的长丝，缠绕成团，且引起的疾病常呈慢性过程，酷似真菌感染，故以往曾将此两菌属列入真菌。实则，它们是原核型细胞微生物，细胞核无核膜，细胞壁由二氨基庚二酸和磷壁酸构成。菌丝横径比真菌细，以分裂方式繁殖，对常用的抗细菌抗生素敏感，而对抗真菌药物不敏感。

含分枝菌酸的三属放线菌，均为需氧菌。本章的放线菌属为不含分枝菌酸的放线菌，为微需氧或厌氧菌，致病性较弱。

第一节　放 线 菌 属

放线菌属（*Actinomyces*）正常寄居在人和动物口腔、上呼吸道、胃肠道和泌尿生殖道。致病的有衣氏放线菌（*A. israelii*）、牛放线菌（*A. bovis*）、内氏放线菌（*A. naeslundii*）、粘液放线菌（*A. viscous*）和龋齿放线菌（*A. odontolyticus*）等。其中对人致病性较强的主要为衣氏放线菌。牛放线菌主要引起牛（或猪）的放线菌病。放线菌主要引起内源性感染，一般不在人与人间及人与动物间传播。

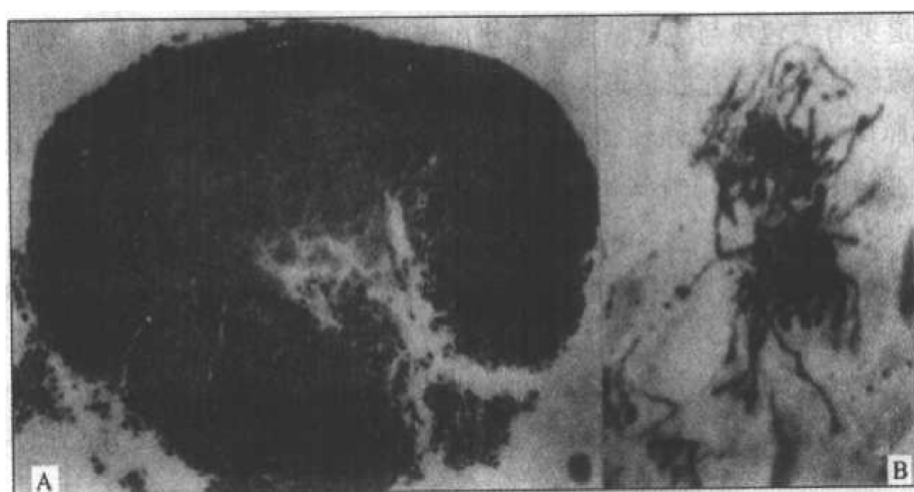


图12-1　放线菌

A. 病灶中的硫磺样颗粒（×450）

B. 硫磺样颗粒碾碎后革兰染色（×1 000）

生物学性状 为革兰阳性、非抗酸性丝状菌，菌丝细长无隔，直径0.5～0.8μm，有分枝，菌丝24h后断裂成链球或链杆状，不形成气生菌丝，有的很像类白喉杆菌（图12-1B）。

放线菌培养比较困难，厌氧或微需氧。初次分离加5% CO_2 可促进其生长，血琼脂平板上37℃ 4～6d可长出灰白或淡黄色微小圆形菌落（<1mm）。不溶血，过氧化氢酶试验阴性。在含糖肉汤中长成球形小团。能分解葡萄糖，产酸不产气，不形成吲哚。衣氏放线菌能还原硝酸盐和分解木糖，以资与牛放线菌区别。

在患者病灶组织和瘘管流出的脓样物质中，可找到肉眼可见的黄色硫磺状小颗粒，称为硫磺样颗粒（sulfur granule）。它是放线菌在组织中形成的菌落（图12-1A）。将硫磺样颗粒制成压片或组织切片，在显微镜下可见颗粒呈菊花状，核心部分由分枝的菌丝交织组成；周围部分长丝排列成放线状，菌丝末端有胶质样物质组成鞘包围，且膨大成棒状体。部分呈革兰阴性。病理标本经苏木精伊红染色，中央部为紫色，末端膨大部红色。

致病性与免疫性 放线菌大多存在于正常人口腔等与外界相通的腔道，属正常菌群。在机体抵抗力减弱、口腔卫生不良、拔牙或外伤时引起内源性感染，导致软组织的化脓性炎症。若无继发感染大多呈慢性无痛性过程，并常伴有多发性瘘管形成，排出硫磺样颗粒是为其特征，称为放线菌病。

根据感染途径和涉及的器官临床分为面颈部、胸部、腹部、盆腔和中枢神经系统等感染。最常见的为面颈部感染，约占患者的60%。大多有近期口腔炎、拔牙史或下颌骨骨折后颈面肿胀，不断产生新结节、多发性脓肿和瘘管形成。病原体可沿导管进入唾液腺和泪腺，或直接蔓延至眼眶和其他部位。若累及颅骨可引起脑膜炎和脑脓肿。胸部感染常有吸入史，也可由颈面部感染通过血行传播。开始在肺部形成病灶，症状和体征似肺结核。损害大多广泛连续蔓延，可扩展到心包、心肌，并能穿破胸膜和胸壁，在体表形成多数瘘管，排出脓液。腹部感染常由吞咽含病原性唾液或由于腹壁外伤或阑尾穿孔。有报道见有大包块与腹壁粘连，有便血与排便困难，疑为结肠癌，术后切片见多个散在的硫磺样颗粒。盆腔感染大多继发于腹部感染。有报道闭经老妇阴道出血，宫内组织见脓团块，内有硫磺样颗粒。原发性皮肤放线菌病常由外伤或昆虫叮咬引起，先出现皮下结节，然后结节软化破溃形成瘘管。中枢神经系统感染常继发于其他病灶。

放线菌与龋齿和牙周炎有关。将从人口腔分离出的内氏和粘液放线菌接种于无菌大鼠口腔内，可导致龋齿的发生。因这两种放线菌能产生一种粘性很强的多糖物质6-去氧太洛糖（6-deoxytalose），使口腔中其他细菌也粘附在牙釉质上，形成菌斑。由于细菌对食物中糖类的分解产酸腐蚀釉质，形成龋齿。细菌并能进一步引起齿龈炎和牙周炎。

放线菌病患者血清中可找到多种抗体，但抗体无诊断价值。机体对放线菌的免疫主要靠细胞免疫。

诊断与防治 最主要和简单的方法是从脓或痰中寻找硫磺样颗粒。将可疑颗粒制成

压片，在显微镜下检查是否有放线状排列菌丝。必要时作厌氧培养于不含抗生素的沙保培养基及血平板上。放线菌生长缓慢，常需观察两周以上。检查菌落和涂片，亦可取活组织切片染色检查。

注意口腔卫生、牙病早日修补是预防的主要方法。患者的脓肿和瘘管应进行外科清创处理，同时应用大剂量青霉素较长时间治疗。甲氧苄氨嘧啶-磺胺甲基异恶唑（TMP-SMZ）有高效，亦可用克林达霉素、红霉素或林可霉素等治疗。

第二节 诺卡菌属

诺卡菌属(*Nocardia*)细胞壁含分枝菌酸，广泛分布于土壤，不属于人体正常菌群，故不呈内源性感染。对人致病的主要有3种：星形诺卡菌(*N. asteroides*)、豚鼠诺卡菌(*N. caviae*)和巴西诺卡菌(*N. brasiliensis*)。在我国最常见的为星形诺卡菌。

生物学性状 形态与放线菌属相似，但菌丝末端不膨大。革兰染色阳性。有的则为阴性，菌丝内出现连串的阳性颗粒。部分诺卡菌抗酸阳性，但仅可用1%盐酸乙醇，延长脱色时间则变为阴性，此点能与结核分枝杆菌区别。

诺卡菌属与放线菌属不同，为严格需氧菌，能形成气生菌丝。营养要求不高，在普通培养基上于室温或37℃均可生长。但繁殖速度慢，一般需1周以上始见菌落。菌落可呈干燥或蜡样，颜色黄、白不等。诺卡菌在液体培养基中形成菌膜，浮于液面，液体澄清。

致病性与免疫性 可因吸入肺部或侵入创口引起化脓感染，特别在T细胞缺陷（如白血病或艾滋病患者）及器官移植用免疫抑制剂治疗的患者。此菌常侵入肺部，主要引起化脓性炎症与坏死，症状与结核相似。诺卡菌易通过血行播散，约1/3患者引起脑膜炎与脑脓肿。在皮肤创伤，特别在刺伤后可引起感染，感染也是以化脓和坏死为特征，可形成结节、脓肿、慢性瘘管。从瘘管中可流出许多小颗粒，即诺卡菌的菌落。好发于脚和腿部，称为足菌肿（mycetoma）。主要病原菌为巴西诺卡菌。

诊断与治疗 根据脓、痰涂片和压片检查，可见有革兰阳性和部分抗酸性分枝菌丝。若见散在的抗酸性杆菌，应与结核分枝杆菌相区别。分离可用沙保培养基或心脑浸液琼脂平板。分离菌株进一步作生化反应鉴定(表12-1)。需注意，诺卡菌入侵肺部后

表12-1 3种诺卡菌的生化反应

	星形诺卡菌	巴西诺卡菌	豚鼠诺卡菌
酪氨酸	−	+	−
黄嘌呤	−	−	+
尿素	+	+	+
葡萄糖	+	+	+
鼠李糖	+/−	−	−

由于巨噬细胞等免疫因素的作用下可使之变为L型。因此，常需反复检查才能证实。有人将豚鼠诺卡菌注入112只小鼠鼻腔均能引起急性致死性肺炎。死鼠肺匀浆接种在心脑浸液琼脂平板不易分离出病原菌，但在高渗培养基上均能分离出L型。

局部治疗主要为手术清创，切除坏死组织。各种感染应用磺胺药治疗。有时还可加用环丝氨酸。一般治疗时间不少于6周。

（林特夫）

第13章 棒状杆菌属

棒状杆菌属（*Corynebacterium*）与分枝杆菌属和诺卡菌属一样，是放线菌中细胞壁含短链分枝菌酸的菌属。革兰阳性，菌体一端或两端膨大呈棒状的杆菌。菌体染色不均匀，出现节段浓染或有异染颗粒。排列不规则，呈栅栏状。无荚膜、无鞭毛，不产生芽胞。此属细菌种类较多。广泛分布于动、植物上。可定植于人皮肤、上呼吸道和泌尿生殖道粘膜。大多为条件致病菌，能引起人类致病且具传染性的主要为白喉棒状杆菌。

第一节 白喉棒状杆菌

白喉棒状杆菌（*C. diphtheriae*），俗称白喉杆菌，是白喉的病原菌。白喉是一种急性呼吸道传染病，患者咽喉部出现灰白色的假膜。该菌能产生强烈外毒素，进入血液可引起全身中毒症状。

一、生物学性状

形态与染色 菌体细长微弯，一端或两端膨大呈棒状。细菌常排列呈V、L等文字形。革兰染色阳性。用美蓝短时间染色菌体着色不均匀，出现有深染的颗粒。用Neisser或Albert等法染色，这些颗粒与菌体着染颜色不同，称为异染颗粒(图13-1)。颗粒

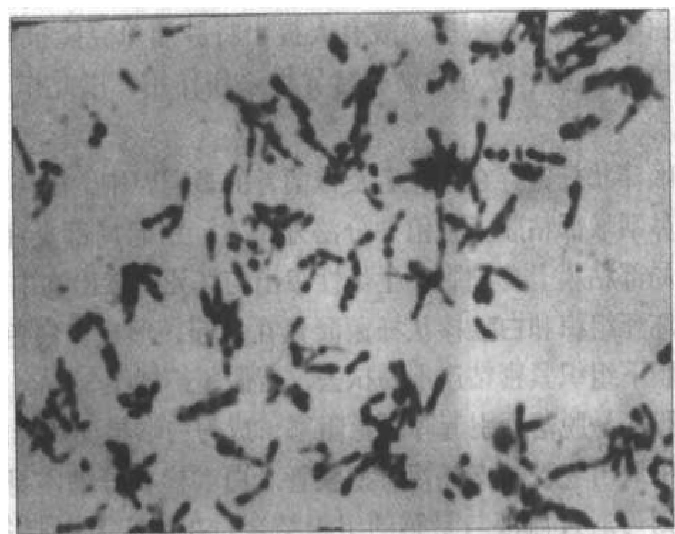


图13-1 白喉棒状杆菌的异染颗粒

（Albert染色 ×1 200）

的主要成分是核糖核酸和多偏磷酸盐，在鉴定时有重要意义。但当细菌衰老时异染颗粒被消耗而不明显，且细胞壁变薄易被脱色，常造成革兰染色不定，有时在革兰阴性的菌体中见有阳性颗粒或节段。

培养特性 需氧或兼性厌氧。培养过夜在血平板上可见1～3mm菌落。在含有凝固血清的吕氏血清斜面上生长迅速，涂片染色异染颗粒明显。分离培养时常用鉴别选择培养基含0.03%～0.04%亚碲酸钾的血平板。亚碲酸钾能抑制杂菌，且白喉棒状杆菌能吸收亚碲酸盐使其还原为元素碲，菌落呈黑色。

抵抗力 白喉棒状杆菌对湿热抵抗力不强，煮沸1min死亡。但对寒冷和干燥抵抗力强。在衣服、床单、玩具上可存活数天至数周。5%石炭酸中1min、3%来沙尔中10min死亡。对青霉素、氯霉素、红霉素敏感。

二、致 病 性

致病物质 白喉棒状杆菌的致病性与其产生的白喉外毒素有关。大多白喉棒状杆菌的β-棒状噬菌体带有编码外毒素的tox基因，而白喉棒状杆菌本身无此基因。当这种噬菌体侵入白喉棒状杆菌，在溶原阶段tox基因即可整合到宿主染色体上，使之产生毒素。白喉毒素含有A和B 2个亚单位。B亚单位上有1个受体结合区和1个转位区。A亚单位上有1个催化区。许多真核细胞，特别是心肌和神经细胞上都有这种毒素的受体，说明严重的白喉患者可有中毒性心肌炎和神经症状的原因。当毒素与宿主细胞结合而被吞入细胞的内泡中后，通过B亚单位转位区的介导，使A亚单位释放到宿主胞质内。A亚单位有毒性，可使细胞内延伸因子2（elongation factor-2，EF-2）灭活，影响蛋白质的合成。

白喉毒素有剧毒，估计1个毒素分子能使1个细胞内所有的EF-2灭活，故1～2个毒素分子进入细胞即可将细胞杀死。现已有人证明成人与鼠对白喉毒素尚有一定的耐受性。但肿瘤组织对白喉毒素高度敏感。故有人提出将肿瘤单克隆抗体与毒素A亚单位结合，注入患者。可使A亚单位对肿瘤有特异性杀伤作用，以此作为生物导弹来治疗肿瘤。

所致疾病 白喉棒状杆菌存在于患者及带菌者的鼻咽腔中，随飞沫或污染的物品传播。感染后细菌在鼻咽喉部粘膜上繁殖并分泌外毒素，引起局部炎症及全身中毒症状。细菌和外毒素可使局部粘膜上皮细胞产生炎性渗出与坏死。渗出物中含有纤维蛋白，能将炎性细胞、粘膜坏死组织和白喉棒状杆菌凝聚在一起，形成灰白色点状或片状假膜。此假膜在咽部与粘膜下组织紧密粘连不易拭去。若假膜扩展至气管、支气管粘膜，由于其上具有纤毛，假膜容易脱落而引起呼吸道阻塞，成为白喉早期致死的主要原因。有报道从喉、气管镜检中取出气管、支气管铸型膜管。白喉棒状杆菌本身一般不侵入血流，但被吸收的外毒素则可通过血液与易感的组织结合，在临床上引起各种表现，如心肌炎、软腭麻痹、声嘶、肾上腺功能障碍等症状。约2/3患者的心肌受损，多发生在病后2～3周，成为白喉晚期致死的主要原因。此外，该菌偶可侵害眼结膜、外耳道、阴道和皮肤创口等处，亦能形成假膜。

三、免 疫 性

白喉的免疫主要靠抗毒素中和外毒素的作用。抗毒素可阻止毒素 B 亚单位与敏感的哺乳动物细胞结合，使 A 亚单位不能进入细胞。在病后、隐性感染和预防接种后均可获得特异免疫力。

人对白喉棒状杆菌普遍易感。新生儿从母体被动获得抗毒素而有免疫力，出生后免疫逐渐消失。3 个月时仅 60%有免疫力，1 岁时几乎全部易感。以往白喉患者约 50%在 5 岁以内。近年来由于婴幼儿及学龄前儿童普遍进行预防接种，儿童与少年发病率有所降低，白喉在人群中的传播日益减少，隐性感染的机会也随之减少，故发病年龄出现推迟现象。

调查人群对白喉的免疫力可用白喉毒素作皮内试验，称为锡克试验（Schick test）。试验是根据毒素抗毒素中和原理，以少量毒素测定机体内有无抗毒素免疫的一种方法。在一侧前臂皮内注射白喉毒素 0.1ml，内含 1/50 豚鼠最小致死量。另一侧前臂皮内注射 0.1ml 对照液（同样毒素加热 80℃ 5min 破坏其毒性）。结果与判断如下：

阴性反应　两侧前臂注射处均无任何反应。表示机体有足量抗毒素，对白喉有免疫力。

阳性反应　试验侧注射局部于 24～48h 开始出现红肿，直径 1～2cm，4～7d 达高峰，对照侧无反应。表明机体对白喉易感，无免疫力。

假阳性反应　试验侧与对照侧均于 6～18h 出现红肿，1～2d 消退。表明机体对毒素蛋白质有超敏反应，同时血液内有足够抗毒素，所以对白喉有免疫力。

混合反应　两侧前臂注射处均于 6～18h 出现红肿，对照侧 3～4d 反应消退，试验侧至第 4～7d 才达高峰。表明机体对毒素蛋白有超敏反应，而对白喉没有免疫力。

四、微生物学检查法

标本　用无菌棉拭从患者病变部位假膜及其边缘取材检查。

直接涂片镜检　将棉拭标本直接作涂片，用美蓝或 Albert 法染色后镜检。若找到有白喉棒状杆菌典型形态、排列，并有异染颗粒者，结合临床即可作初步诊断，以便及时治疗。白喉的治疗是否及时与死亡率密切相关，故早期快速诊断至关重要。

分离培养　将棉拭取材接种于吕氏血清斜面，经 37℃ 6～12h 增菌后作涂片镜检。检出率要比直接涂片高，有助于快速诊断。延长培养至 12～18h，则可长出灰白色小菌落。

毒力鉴定　毒力鉴定是鉴别白喉棒状杆菌与其他棒状杆菌的重要试验。检测方法分体外与体内两类，体外法可用 SPA 协同凝集试验；体内法可用豚鼠作体内中和试验。后者选体重 250g 的豚鼠 2 只，其中 1 只于试验前 12h 由腹腔注射白喉抗毒素 250～500 单位作为对照。然后 2 只豚鼠均于皮下注射待检菌的 48h 培养液 2ml。若于 2～4d 试验动物死亡，而对照动物活存，表明待检菌能产生白喉毒素。

五、防 治 原 则

白喉的特异性预防有人工主动免疫和人工被动免疫两种。注射白喉类毒素是预防白喉的主要措施。自从应用白喉类毒素后，我国白喉的发病率从1949年的23.1/10万下降至1985年的0.14/10万。目前国内外均应用白喉类毒素、百日咳疫苗和破伤风类毒素混合制剂（简称白百破三联疫苗)。国外报道有效率达97%，但大量成人血清抗体低于保护水平（0.01IU/ml)。因此，应在出生后3月初次接种，3～4岁和6岁各加强1次。以后每10年应重复免疫1次。对密切接触过白喉病人的易感儿童，应肌肉注射白喉抗毒素1000～3000单位作紧急预防。为避免用马血清制备的白喉抗毒素引起速发型超敏反应，--般主张立即给密切接触且鼻咽部培养阳性者进行药物预防，如注射青霉素或口服红霉素，而不轻易使用抗毒素。

对白喉患者的治疗，除用抗生素外应尽早注射足量白喉抗毒素。根据病情通常用2～10万单位肌肉或静脉注射。注射前应作皮肤试验，阳性者进行脱敏治疗。抗毒素的治疗应当尽早，毒素一旦与宿主易感细胞结合则不能被抗毒素中和。延迟1d使用抗毒素，心肌炎等并发症与死亡率将增加1倍。

第二节　其他棒状杆菌

棒状杆菌属除白喉棒状杆菌外，大多不产生外毒素。菌体较粗短，着色较均匀，很少有异染颗粒。大多寄生在人或动物的鼻腔、咽喉、外耳道、外阴、泌尿道和皮肤等处。为条件致病菌。人体常见的有溃疡棒状杆菌（*C. ulcerans*)，可从类似白喉的溃疡性咽喉病灶中分离出；痤疮棒状杆菌（C.

第14章　分枝杆菌属

分枝杆菌属（*Mycobacterium*）是一类细长略弯曲的微生物，有时有分枝或出现丝状体。目前在分类学上已将分枝杆菌属归纳于放线菌中。对人致病的放线菌可分含和不含分枝菌酸两类。分枝杆菌属于含分枝菌酸类。

本属细菌的主要特点是细胞壁含有大量脂质，主要是分枝菌酸。这和其染色性、生长特性、致病性、抵抗力等密切相关。一般不易着色，若经加温或延长染色时间而着色后能抵抗强脱色剂盐酸乙醇的脱色，故又称抗酸杆菌（acid-fast bacilli）。该菌属无鞭毛、无芽胞、不产生内、外毒素，其致病性和菌体成分有关。引起的疾病都呈慢性，并伴有肉芽肿。分枝杆菌种类较多，可分为结核分枝杆菌复合群、非结核分枝杆菌和麻风分枝杆菌三类。非结核分枝杆菌根据生长速度和产色等不同又分为4组（表14-1）。

表14-1　分枝杆菌的分类

分　类	生长特性	主要对人致病的分枝杆菌
结核分枝杆菌复合群	生长缓慢	结核分枝杆菌、牛分枝杆菌
非结核分枝杆菌		
Ⅰ组	生长缓慢、光产色	堪萨斯分枝杆菌、海分枝杆菌
Ⅱ组	生长缓慢、暗产色	瘰疬分枝杆菌
Ⅲ组	生长缓慢、不产色	鸟-胞内分枝杆菌
Ⅳ组	生长快速、	偶发分枝杆菌
麻风分枝杆菌	人工培养基上不生长	

第一节　结核分枝杆菌

结核分枝杆菌（*M. tuberculosis*），俗称结核杆菌，是引起结核病的病原菌。可侵犯全身各器官，但以肺结核为最多见。结核病至今仍为重要的传染病。估计世界人口中1/3感染结核分枝杆菌。据WHO报道，每年约有800万新病例发生，至少有300万人死于该病。我国建国前死亡率达200～300/10万，居各种疾病死亡原因之首。建国后人民生活水平提高，卫生状况改善，特别是开展了群防群治，儿童普遍接种卡介苗，结核病的发病率和死亡率大为降低。但应注意，世界上有些地区因艾滋病、吸毒、免疫抑制剂的应用、酗酒和贫困等原因，发病率又有上升趋势。

一、生物学性状

形态与染色 结核分枝杆菌为细长略带弯曲的杆菌，大小1～4×0.4μm（图14-1A)。牛分枝杆菌则比较粗短。分枝杆菌属的细菌细胞壁脂质含量较高，约占干重的60%，特别是有大量分枝菌酸（mycolic acid）包围在肽聚糖层的外面，可影响染料的穿入。分枝杆菌一般用齐尼（Ziehl-Neelsen）抗酸染色法，以5%石炭酸复红加温染色后可以染上，但用3%盐酸乙醇不易脱色。若再加用美蓝复染，则分枝杆菌呈红色，而其他细菌和背景中的物质为蓝色。

近年发现结核分枝杆菌在细胞壁外尚有一层荚膜。一般因制片时遭受破坏而不易看到。若在制备电镜标本固定前用明胶处理，可防止荚膜脱水收缩。在电镜下可看到菌体外有一层较厚的透明区，即荚膜，荚膜对结核分枝杆菌有一定的保护作用。

结核分枝杆菌在体内外经青霉素、环丝氨酸或溶菌酶诱导可影响细胞壁中肽聚糖的合成，异烟肼影响分枝菌酸的合成，巨噬细胞吞噬结核分枝杆菌后溶菌酶的作用可破坏肽聚糖，均可导致其变为L型，呈颗粒状或丝状（图14-1B与C)。异烟肼影响分枝菌酸的合成，可变为抗酸染色阴性。这种形态多形染色多变在肺内外结核感染标本中常能见到。临床结核性冷脓疡和痰标本中甚至还可见有非抗酸性革兰阳性颗粒，过去称为Much颗粒。该颗粒在体内或细胞培养中能返回为抗酸性杆菌，故亦为L型。

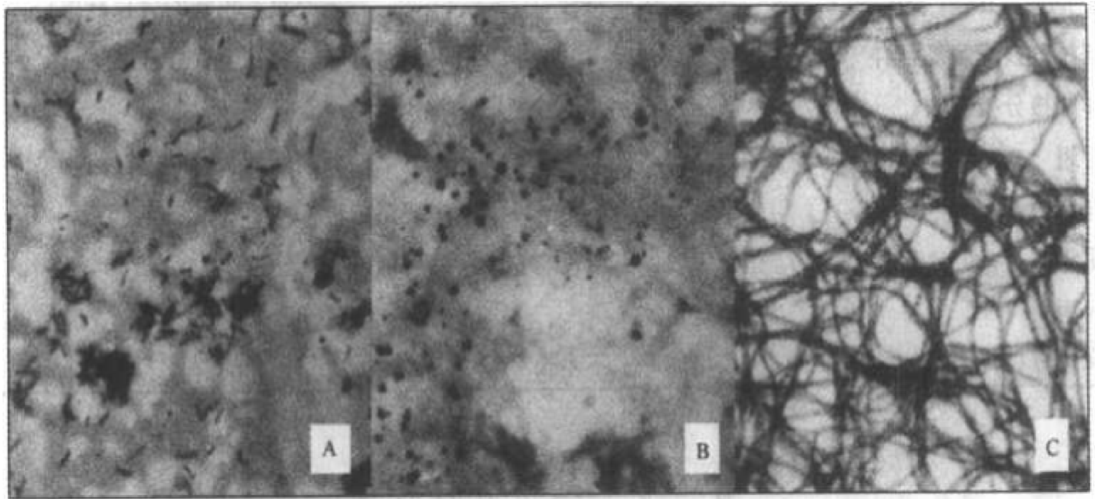


图14-1 结核分枝杆菌

A. 细菌型 B. L型（颗粒型） C. L型（丝状型）

(×1 000)

培养特性 专性需氧。最适温度为37℃，低于30℃不生长。结核分枝杆菌细胞壁的脂质含量较高，影响营养物质的吸收，故生长缓慢。在一般培养基中每分裂1代需时18～24h，营养丰富时只需5h。

初次分离需要营养丰富的培养基。常用的有罗氏（Lowenstein-Jensen）固体培养基，内含蛋黄、甘油、马铃薯、无机盐和孔雀绿等。孔雀绿可抑制杂菌生长，便于分离和长期培养。蛋黄含脂质生长因子，能刺激生长。根据接种菌多少，一般2～4周可见

菌落生长。菌落呈颗粒、结节或花菜状，乳白色或米黄色，不透明。在液体培养基中可能由于接触营养面大，细菌生长较为迅速。一般 1～2 周即可生长。临床标本检查液体培养比固体培养的阳性率高数倍。

生化反应 结核分枝杆菌不发酵糖类。与牛分枝杆菌的区别在于结核分枝杆菌可合成烟酸和还原硝酸盐，而牛分枝杆菌不能。热触酶试验对区别结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌有重要意义。结核分枝杆菌大多数触酶试验阳性，而热触酶试验阴性；非结核分枝杆菌则大多数两种试验均阳性。热触酶试验检查方法是将浓的细菌悬液置 68℃ 水浴加温 20min，然后再加 H_2O_2。观察是否产生气泡，有气泡者为阳性。

抵抗力 结核分枝杆菌细胞壁中含有脂质，故对乙醇敏感，在 70% 乙醇中 2min 死亡。此外，脂质可防止菌体水分丢失，故对干燥的抵抗力特别强。粘附在尘埃上保持传染性 8～10d，在干燥痰内可存活 6～8 个月。结核分枝杆菌对湿热敏感，在液体中加热 62～63℃ 15min 或煮沸即被杀死。结核分枝杆菌对紫外线敏感。直接日光照射数小时可被杀死，可用于结核患者衣服、书籍等的消毒。

结核分枝杆菌的抵抗力与环境中有机物的存在有密切关系，如痰液可增强结核分枝杆菌的抵抗力。因大多数消毒剂可使痰中的蛋白质凝固，包在细菌周围，使细菌不易被杀死。5% 石炭酸在无痰时 30min 可杀死结核分枝杆菌，有痰时需要 24h；5% 来苏儿无痰时 5min 杀死结核分枝杆菌，有痰时需要 1～2h。

结核分枝杆菌对酸（3% HCl 或 6% H_2SO_4）或碱（4% NaOH）有抵抗力，15min 不受影响。可在分离培养时用于处理有杂菌污染的标本和消化标本中的粘稠物质。结核分枝杆菌对 1∶13 000 孔雀绿有抵抗力，加在培养基中可抑制杂菌生长。结核分枝杆菌对链霉素、异烟肼、利福平、环丝氨酸、乙胺丁醇、卡那霉素、对氨基水杨酸等敏感，但长期用药容易出现耐药性，而吡嗪酰胺的耐药性 $<5\%$。

变异性 结核分枝杆菌可发生形态、菌落、毒力、免疫原性和耐药性等变异。卡介苗(BCG)就是 Calmette 和 Guérin 2 人（1908）将牛分枝杆菌在含甘油、胆汁、马铃薯的培养基中经13年230次传代而获得的减毒活疫苗株，现广泛用于预防接种。

结核分枝杆菌易发生耐药性。在固体培养基中对常用的含异烟肼 1μg、链霉素 10μg、利福平 50μg 能生长的结核分枝杆菌为耐药菌。耐药菌株毒力有所减弱。异烟肼可影响细胞壁中分枝菌酸的合成，诱导结核分枝杆菌成为 L 型，此可能是耐异烟肼的一种原因。药物敏感试验表明对异烟肼耐药，而对利福平和链霉素大多仍敏感。故目前治疗多主张异烟肼和利福平或吡嗪酰胺联合用药，以减少耐药性的产生，增强疗效。临床上耐异烟肼菌株致病性也有所减弱。实验证明豚鼠感染结核分枝杆菌常于 6 周内死亡，且肝内见有粟粒性病灶；而感染 L 型后往往要百余天才死亡，病灶缺乏典型结核结节病变。但 L 型有回复的特性，未经彻底治疗可导致复发。

近年来世界各地结核分枝杆菌的多耐菌株逐渐增多，甚至引起暴发流行。结核分枝杆菌的耐药可由自发突变产生（原发性耐药）或由用药不当经突变选择产生（继发性耐药）。但多耐的产生主要可能由于后者。耐药基因在染色体上，对不同药物的耐药基因

不相连接，所以联合用药治疗有效。对异烟肼耐药与 katG 基因丢失有关。易感株有该基因，耐药株无。利福平主要作用于 RNA 多聚酶。编码该酶的基因（rpoB）突变则引起对利福平耐药。1999 年国内报道 7 株耐利福平株全部 rpoB 基因发生突变。敏感株则否。

二、致 病 性

结核分枝杆菌不产生内、外毒素。其致病性可能与细菌在组织细胞内大量繁殖引起的炎症，菌体成分和代谢物质的毒性以及机体对菌体成分产生的免疫损伤有关。

致病物质 与荚膜、脂质和蛋白质有关。

1. 荚膜 荚膜的主要成分为多糖，部分脂质和蛋白质。其对结核分枝杆菌的作用有：①荚膜能与吞噬细胞表面的补体受体 3（CR3）结合，有助于结核分枝杆菌在宿主细胞上的粘附与入侵；②荚膜中有多种酶可降解宿主组织中的大分子物质，供入侵的结核分枝杆菌繁殖所需的营养；③荚膜能防止宿主的有害物质进入结核分枝杆菌，甚至如小分子 NaOH 也不易进入。故结核标本用 4% NaOH 消化时，一般细菌很快杀死，但结核分枝杆菌可耐受数十分钟。结核分枝杆菌入侵后，荚膜还可抑制吞噬体与溶酶体的融合。

2. 脂质 据实验研究细菌毒力可能与其所含复杂的脂质成分有关，特别是糖脂更为重要。①索状因子：是分枝菌酸和海藻糖结合的一种糖脂。能使细菌在液体培养基中呈蜿蜒索状排列（图 14-2）。此因子与结核分枝杆菌毒力密切相关。它能破坏细胞线粒体膜，影响细胞呼吸，抑制白细胞游走和引起慢性肉芽肿。若将其从细菌中提出，则细菌丧失毒力。②磷脂：能促使单核细胞增生，并使炎症灶中的巨噬细胞转变为类上皮细胞，从而形成结核结节。③硫酸脑苷脂（sulfatide）：可抑制吞噬细胞中吞噬体与溶酶体的结合，使结核分枝杆菌能在吞噬细胞中长期存活。④蜡质 D：是一种肽糖脂和分枝菌酸的复合物，可从有毒株或卡介苗中用甲醇提出，具有佐剂作用，可激发机体产生迟发型超敏反应。



图 14-2 结核分枝杆菌索状生长（×1 000）

3. 蛋白质　有抗原性，和蜡质D结合后能使机体发生超敏反应，引起组织坏死和全身中毒症状，并在形成结核结节中发挥一定作用。

所致疾病　结核分枝杆菌可通过呼吸道、消化道或皮肤损伤侵入易感机体，引起多种组织器官的结核病，其中以通过呼吸道引起肺结核为最多。因肠道中有大量正常菌群寄居，结核分枝杆菌必须通过竞争才能生存并和易感细胞粘附。肺泡中无正常菌群，结核分枝杆菌可通过飞沫微滴或含菌尘埃的吸入，故肺结核较为多见。

1. 肺部感染　由于感染菌的毒力、数量、机体的免疫状态不同，肺结核可有以下两类表现。

(1) 原发感染：多发生于儿童。肺泡中有大量巨噬细胞，少数活的结核分枝杆菌进入肺泡即被巨噬细胞吞噬。由于该菌有大量脂质，可抵抗溶菌酶而继续繁殖，使巨噬细胞遭受破坏，释放出的大量菌在肺泡内引起炎症，称为原发灶。初次感染的机体因缺乏特异性免疫，结核分枝杆菌常经淋巴管到达肺门淋巴结，引起肺门淋巴结肿大，称原发综合征。此时，可有少量结核分枝杆菌进入血液，向全身扩散，但不一定有明显症状（称隐性菌血症）；与此同时灶内巨噬细胞将特异性抗原递呈给周围淋巴细胞。感染3～6周，机体产生特异性细胞免疫，同时也出现超敏反应。病灶中结核分枝杆菌细胞壁磷脂，一方面刺激巨噬细胞转化为上皮样细胞，后者相互融合或经核分裂形成多核巨细胞（即朗罕巨细胞），另一方面抑制蛋白酶对组织的溶解，使病灶组织溶解不完全，产生干酪样坏死，周围包着上皮样细胞，外有淋巴细胞、巨噬细胞和成纤维细胞，形成结核结节（即结核肉芽肿）是结核的典型病理特征。感染后约5%可发展为活动性肺结核，其中少数患者因免疫低下，可经血和淋巴系统，播散至骨、关节、肾、脑膜及其他部位引起相应的结核病。90%以上的原发感染形成纤维化或钙化，不治而愈，但病灶内常仍有一定量的结核分枝杆菌长期潜伏，不但能刺激机体产生免疫也可成为日后内源性感染的渊源。

(2) 原发后感染：病灶亦以肺部为多见。病菌可以是外来的（外源性感染）或原来潜伏在病灶内（内源性感染）。由于机体已有特异性细胞免疫，因此原发后感染的特点是病灶多局限，一般不累及邻近的淋巴结，被纤维素包围的干酪样坏死灶可钙化而痊愈。若干酪样结节破溃，排入邻近支气管，则可形成空洞并释放大量结核分枝杆菌至痰中。

1990国外报道各种类型肺结核，40%痰标本检出L型。近年来有人注意到病灶中见有形态不典型的抗酸菌却未见典型结核结节，称之为“无反应性结核”。用结核分枝杆菌L型感染实验动物，也见有同样情况。这是由于结核分枝杆菌L型缺少细胞壁脂质成分，不能刺激结节形成，而仅有淋巴结肿大和干酪样坏死。单从病理变化判断，常被误认为慢性淋巴结炎。有人对155例曾诊断为慢性淋巴结炎蜡块标本作回顾性研究，用卡介苗抗体作免疫酶染色，68.9%阳性，抗酸染色60%为抗酸颗粒。说明病例中很大一部分与结核分枝杆菌L型有关。临床上对此应予注意，以防漏诊与误诊。

2. 肺外感染　部分患者结核分枝杆菌可进入血液循环引起肺内、外播散，如脑、肾结核，痰菌被咽入消化道也可引起肠结核、结核性腹膜炎等。国外有报道332例血标本仅2例培养出结核分枝杆菌，但将此标本注入豚鼠皮下12%感染结核。说明结核分

枝杆菌在血中播散的大多不是一般细菌型，而是一种不易生长的 L 型。近年有不少肺外结核的新报道，结核分枝杆菌的检出率 L 型多于细菌型：如儿童结核性脑膜炎 10 例脑脊液培养，9 例培养出 L 型，细菌型仅 1 例。老年性前列腺肥大排尿困难，术后病理切片抗酸菌 L 型占 61.2%，无 1 例为典型抗酸杆菌。慢性前列腺炎常规培养阴性者，近 1/3 检出抗酸菌 L 型。不育症男子精液检查单见抗酸杆菌 7%，单见抗酸 L 型 14%，电镜检查见 L 型吸附于精子头、尾。以结核分枝杆菌 L 型感染小鼠，73% 睾丸间质炎症中见有抗酸菌 L 型。

三、免 疫 性

免疫机制 结核分枝杆菌是胞内感染菌，其免疫主要是以 T 细胞为主的细胞免疫。T 细胞不能直接和胞内菌作用，必须先与感染细胞反应，导致细胞崩溃，释放出结核分枝杆菌。机体对结核分枝杆菌虽能产生抗体，但抗体只能与释出的细菌接触起辅助作用。结核分枝杆菌侵入呼吸道后，由于肺泡中 80%～90% 是巨噬细胞，10% 是淋巴细胞（T 细胞占多数）；原肺泡中未活化的巨噬细胞抗菌活性弱，不能防止所吞噬的结核分枝杆菌生长，反可将结核分枝杆菌带到他处。但可递呈抗原，使周围 T 淋巴细胞致敏。致敏淋巴细胞可产生多种细胞因子，如 IL-2、IL-6、INF-γ，他们与 TNF-α 的共同作用可杀死病灶中的结核分枝杆菌。细胞因子中 INF-γ 是主要的，有多种细胞能产生 INF-γ，浸润的先后为 NK、γ/δ T 和 $CD4^+$、$CD8^+$ α/β T 细胞。上述细胞有的可直接杀伤靶细胞，有的产生细胞因子激活巨噬细胞，使吞噬作用加强引起呼吸爆发，导致活性氧中介物和活性氮中介物的产生而将病菌杀死。

机体内的 T 细胞根据抗原受体（TCR）的不同可分 2 种：一种由 α 链与 β 链组成，称 α/β T 细胞（含 CD4 或 CD8 标志），另一种由 γ 链和 δ 链组成，称 γ/δ T 细胞（大多无 CD4 或 CD8 标志）。人与小鼠外周血中前者>90%，后者<10%。在抗分枝杆菌免疫中这 2 种 T 细胞均起到重要作用。在感染早期 α/β T 细胞尚未升至高峰时，结核分枝杆菌受 γ/δ T 细胞控制。在与结核分枝杆菌接触后 γ/δ T 细胞即大量增殖。健康人经分枝杆菌提取物刺激 7～10d 后，外周淋巴细胞中 γ/δ T 细胞可有所增加，其作用与 α/β T 细胞同样可杀伤结核分枝杆菌。近年来证明小鼠感染牛分枝杆菌后 γ/δ T 细胞迅速汇集到炎症区，增殖的主要是 Vγ 9δ2T 细胞亚群，但人活动性结核时此亚群有所下降。

近年来注意到 γ/δ T 细胞攻击的主要是分枝杆菌中的一种热休克蛋白（heat shock protein，HSP）。HSP 是一种具有高度保守性的蛋白质，从原核细胞到动植物中均有，其氨基酸序列有 50% 同源。在正常生物中含量极少，但在感染、发热、细胞恶变等外界环境条件改变时即大量产生，故 HSP 又称应激蛋白（stress protein）。HSP 在许多病原菌中均有，其氨基酸序列有共同成分，不同细菌引起的亚临床感染均可引起一定程度相同的免疫，被认为是非特异性免疫。

结核的免疫属于感染免疫（infection immunity），又称有菌免疫，即只有当结核分枝杆菌或其组分存在体内时才有免疫力。一旦体内的结核分枝杆菌或其组分全部消失，免疫也随之不存在。

免疫与超敏反应 随着机体对结核分枝杆菌产生保护作用的同时，也可以看到有迟发型超敏反应的产生，二者均为 T 细胞介导的结果。从郭霍现象（Koch phenomenon）可以看到，将结核分枝杆菌初次注入健康豚鼠皮下，10～14d 后局部溃烂不愈，附近淋

巴结肿大，细菌扩散至全身，表现为原发感染的特点。若以结核分枝杆菌对以前曾感染过结核的豚鼠进行再感染，则于1～2d内局部迅速产生溃烂，易愈合。附近淋巴结不肿大，细菌亦很少扩散，表现为原发后感染的特点。可见再感染时溃疡浅、易愈合、不扩散，表明机体已有一定免疫力。但再感染时溃疡发生快，说明在产生免疫的同时有超敏反应的参与。近年来研究表明结核分枝杆菌诱导机体产生免疫和超敏反应的物质不同。超敏反应主要由结核菌素蛋白和蜡质D共同引起，而免疫则由结核分枝杆菌核糖体RNA（rRNA）引起。二种不同抗原成分激活不同的T细胞亚群释放出不同的细胞因子所致。

结核菌素试验 结核菌素试验是应用结核菌素进行皮肤试验来测定机体对结核分枝杆菌是否能引起超敏反应的一种试验。

1. 结核菌素试剂 以往用旧结核菌素（old tuberculin，OT）。系将结核分枝杆菌接种于甘油肉汤培养基，培养4～8周后加热浓缩过滤制成。稀释2 000倍，每0.1ml含5单位。目前都用纯蛋白衍化物（purified protein derivative，PPD）。PPD有二种：人结核分枝杆菌制成的PPD-C和卡介苗制成的BCG-PPD。每0.1ml含5单位。

2. 试验方法与意义 常规试验分别取2种PPD 5个单位注射两前臂皮内，48～72h后红肿硬结超过5mm者为阳性，≥15mm为强阳性，对临床诊断有意义。若PPD-C侧红肿大于BCG-PPD侧为感染。反之，BCG-PPD侧大于PPD-C侧，可能系卡介苗接种所致。

阴性反应表明未感染过结核分枝杆菌，但应考虑以下情况：①感染初期，因结核分枝杆菌感染后需4周以上才能出现超敏反应；②老年人；③严重结核患者或正患有其他传染病，如麻疹导致的细胞免疫低下；④获得性细胞免疫低下，如艾滋病或肿瘤等用过免疫抑制剂者。为排除假阴性，国内有的单位加用植物血凝素（PHA）针剂，0.1ml含10μg作皮试。若24h红肿大于PHA皮丘者为细胞免疫正常，若无反应或反应不超过PHA皮丘者为免疫低下。

四、微生物学检查法

结核病的症状和体征往往不典型，虽可借助X线摄片诊断，但确诊仍有赖于细菌学检查。

标本 标本的选择根据感染部位。可取痰、支气管灌洗液、尿、粪、脑脊液或胸、腹水。其他肺外感染可取血或相应部位分泌液或组织细胞。

直接涂片镜检 标本直接涂片或集菌后涂片，用抗酸染色。若找到抗酸阳性菌即可初步诊断。抗酸染色一般用Ziehl-Neelsen法。为加强染色，可用IK（intensified Kinyoun）法染色。将石炭酸复红染色过夜，用0.5%盐酸乙醇脱色30s，则包括大多结核分枝杆菌L型也可着色。为提高镜检敏感性，也可用金胺染色，在荧光显微镜下结核分枝杆菌呈现金黄色荧光。

浓缩集菌 先集菌后检查，可提高检出率。培养与动物试验也必须经集菌过程以除去杂菌。脑脊液和胸、腹水无杂菌，可直接离心沉淀集菌。痰、支气管灌洗液、尿、粪

等污染标本需经4% NaOH（痰和碱的比例为1:4，尿、支气管灌洗液和碱的比例为1:1）处理15min，时间过长易使结核分枝杆菌L型与非结核分枝杆菌死亡。尿标本先加5%鞣酸、5%乙酸各0.5ml于锥形量筒内静置，取沉淀物处理。处理后的材料再离心沉淀。取沉淀物作涂片染色镜检。若需进一步作培养或动物接种，应先用酸中和后再离心沉淀。

分离培养 将经中和集菌材料接种于固体培养基，器皿口加橡皮塞于37℃培养，每周观察1次。结核分枝杆菌生长缓慢，一般需2～4周长成肉眼可见的落菌。液体培养可将集菌材料滴加于含血清的培养液，则可于1～2周在管底见有颗粒生长。取沉淀物作涂片，能快速获得结果，并可进一步作生化、药敏等测定和区分结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌。国内学者已证明结核分枝杆菌L型可存在于血细胞内或粘附于细胞表面。这种患者往往血沉加快，用低渗盐水溶血后立即接种高渗结核分枝杆菌L型培养基能提高培养阳性率。

动物试验 将集菌后的材料注射于豚鼠腹股沟皮下，3～4周后若局部淋巴结肿大，结核菌素试验阳转，即可进行解剖。观察肺、肝、淋巴结等器官有无结核病变，并作形态、培养等检查。若6～8周仍不见发病，也应进行解剖检查。

快速诊断 一般涂片检查菌数需$5\times10^{3\sim4}$/ml，培养需1×10^{2}/ml，标本中菌数少于此数时不易获得阳性结果，且培养需时较长。目前已将多聚酶链反应（PCR）扩增技术应用于结核分枝杆菌DNA鉴定，每ml中只需含几个细菌即可获得阳性，且1～2d得出结果。操作中需注意实验器材的污染问题，以免出现假阳性。又细菌L型由于缺壁并有代偿性细胞膜增厚，而一般常用的溶菌酶不能使细胞膜破裂释出DNA，以致造成PCR假阴性。用组织磨碎器充分研磨使细胞破裂后，则可出现阳性。目前有条件的单位使用BACTEC法，以含^{14}C棕榈酸作碳源底物的$7H_{12}$培养基，测量在细菌代谢过程中所产生的^{14}C量推算出标本中是否有抗酸杆菌，5～7d就可出报告。

近年来国内外研究证明临床各种类型的肺结核患者中40%左右分离出L型。经治疗的结核病人细菌型消失，L型常持续存在。有空洞患者痰中已不排细菌型者，8%左右仍可检出L型。故有学者建议将多次检出L型亦作为结核病活动判断标准之一，细菌型与L型均转阴才能作为痰阴性。

五、防 治 原 则

预防 近20年国际组织提出控制结核病主要方法有：①发现和治疗痰菌阳性者；②新生儿接种卡介苗。约80%获得保护力。40年代我国部分城市调查肺结核病死率200/10万以上。解放后卫生条件改善，1973～1977显示病死率已下降至30/10万。但1979年以来全国三次大规模抽样检查疫情下降很慢。1979～1990每年患病率递降率2.8%，痰阳性递降率为3.0%。目前死亡率19/10万，仍为其他传染病之和的2倍。卫生部要求2000年新生儿卡介苗接种率达90%。据统计新生儿时接种过的人以后的发病率比未接种过的减少约80%。

卡介苗是活疫苗，苗内活菌数直接影响免疫效果，故目前已有冻干疫苗供应。新的

核糖体 RNA（rRNA）疫苗已引起关注，但尚处在试验阶段。

治疗 利福平、异烟肼、乙胺丁醇、链霉素为第一线药物。利福平与异烟肼合用可以减少耐药性的产生。对严重感染，可以吡嗪酰胺与利福平及异烟肼合用。1g 干酪灶或空洞约含结核分枝杆菌 $10^{6\sim10}$。每 $10^{5\sim6}$菌可有 1 种耐药突变产生，对 2 种耐药需菌 10^{11}，故以 2 药联合应用为宜。

第二节 非结核分枝杆菌

非结核分枝杆菌（nontuberculosis mycobacteria）是指结核分枝杆菌、牛分枝杆菌与麻风分枝杆菌以外的分枝杆菌。原称为非典型分枝杆菌（atypical mycobacteria），其特性有别于结核分枝杆菌，如对酸、碱比较敏感；对常用的抗结核菌药物较耐受；生长温度不如结核分枝杆菌严格；多存在于环境中；为条件致病菌。可因引起结核样病变而受到关注。抗原与结核分枝杆菌有交叉。1999 年上海第一肺科医院报道，15 年间 5592 例痰抗酸杆菌阳性患者中经鉴定为非结核分枝杆菌者 173 例中有咳嗽症状者占 78%，咯血者 58%，发热者 26%，有空洞者 40%。表明有一定致病性。非结核分枝杆菌从结核样病人分离的阳性率，我国为 3%～15%。

Runyon 根据菌落色素与生长速度将非结核分枝杆菌分为 4 组。

第Ⅰ组：光产色菌（photochromogen）。本组细菌在暗处为奶油色，曝光 1 小时后再培养即成橘黄色。生长缓慢，菌落光滑。对人致病的有堪萨斯分枝杆菌（*M. kansas*），引起人类肺结核样病变，常有空洞形成；海分枝杆菌（*M. marinum*），在水中可通过皮肤擦伤处侵入，引起皮肤丘疹、结节与溃疡，病理检查见有抗酸菌，易被误认为麻风分枝杆菌。

第Ⅱ组：暗产色菌（scotochromogen）。这类细菌在暗处培养时菌落呈橘红色。在 37℃生长缓慢，菌落光滑。对人致病的有瘰疬分枝杆菌（*M. scrofulaceum*），引起儿童淋巴结炎。

第Ⅲ组：不产色菌（nonphotochromogen）。通常不产生色素。40～42℃下生长慢。菌落光滑。鸟-胞内分枝杆菌（*M. avium-intracellulare*）可引起结核样病变，多见于肺与肾。

第Ⅳ组：迅速生长菌（rapid grower）。在 25～45℃生长。生长快，培养 5～7d 即可见到菌落，菌落粗糙，有的并能产色。对人致病的有偶发分枝杆菌（*M. fortuitum*）、龟分枝杆菌（*M. chelonei*）和溃疡分枝杆菌（*M. ulcerans*），引起皮肤病。耻垢分枝杆菌（*M. smegmatis*）不致病，但经常在外阴部皮脂中存在，检查粪、尿中结核分枝杆菌时应予注意。

非结核分枝杆菌是否有致病性可用抗煮沸试验加以区别。非致病株煮沸 1min 即失去抗酸性，而致病株能耐 10min，甚至高压灭菌亦不失去抗酸性。结核分枝杆菌和非结核分枝杆菌的鉴别，除热触酶试检外，可将菌苔置含盐水小滴的玻片上研磨，前者不易乳化而后者容易乳化。

由于许多非结核分枝杆菌菌株对常用的异烟肼、链霉素等耐药，但对利福平有一定敏感性；现多主张用利福平、乙胺丁醇和异烟肼联合使用。溃疡分枝杆菌则仅对卡那霉素等氨基糖苷类抗结核菌药物敏感。但鸟-胞内分枝杆菌耐药性强；有报道分出的23株全部对上述药物耐药；而通过结构改造的新型红霉素，如克拉红霉素在体内外有很好的抗结核菌活性，可破坏细胞壁和细胞膜结构，对鸟-胞内分枝杆菌血培养清除率达62%～98%。

非结核分枝杆菌经治疗后也常出现L型，耐药性增高，有的经多年治疗不愈。且L型往往因细胞壁脂质缺失不易致敏淋巴细胞，结核菌素试验可呈阴性，诊治时应多加注意。

第三节 麻风分枝杆菌

麻风分枝杆菌（*M. laprae*），俗称麻风杆菌，引起麻风，是一种慢性传染病。流行广泛。目前全世界约有病例1200万，主要分布在亚、非和拉丁美洲。我国建国前流行较严重，估计约有50万例病人。1981卫生部要求提出在20世纪末基本消灭麻风的指标是发病率≤0.01‰。目前，发病率已大幅度下降。1996年统计尚有现病人6200余例，患病率为0.0056‰。近3年病例已稳定在2000例左右。但治愈后有一定复发率（约3.7%），应予重视。

生物学特性 麻风分枝杆菌的形态、染色与结核分枝杆菌相似。细长、略带弯曲，常呈束状排列（图14-3）。革兰和抗酸染色均为阳性。经治疗后可呈短杆状、颗粒状或念珠状多形性，可能是L型变异。未经彻底治愈可导致复发。

麻风分枝杆菌是一种典型胞内菌，病人渗出物标本涂片中可见大量麻风分枝杆菌存在于细胞内。这种细胞的胞浆呈泡沫状，称麻风细胞。这与结核分枝杆菌区别有重要意义。

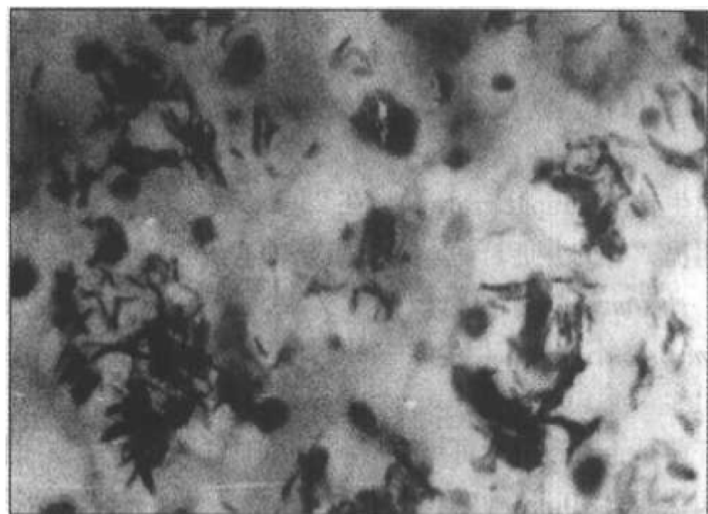


图14-3 麻风分枝杆菌（×1 200）

麻风分枝杆菌在体外人工培养至今仍未成功。有人将麻风分枝杆菌注人小鼠足垫，并将足垫温度降低，即可见麻风分枝杆菌繁殖并能传代。此法可供药物筛选和免疫及治疗研究之用。

致病性与免疫性 长期以来一直认为麻风分枝杆菌主要通过破损的皮肤、粘膜进入人体。近年来发现未经治疗的瘤型麻风患者早期鼻粘膜分泌物含有大量麻风分枝杆菌，因此通过呼吸道是一个重要的途径。其他如痰、汗、泪、乳汁、精液和阴道分泌物中均可有麻风分枝杆菌，故也可通过接触传播。人对麻风分枝杆菌的抵抗力较大，主要靠细胞免疫。和结核相似，α/β 和 γ/δ T 细胞起重要作用，可在巨噬细胞中逃离吞噬体，在细胞质中保持生长较长时间，以免受 IFN-γ 活化巨噬细胞溶酶体的作用。但其靶细胞谱广，有时不受巨噬细胞的杀伤。根据机体的免疫状态、病理变化和临床表现可将大多数患者分为瘤型和结核型两型。少数患者处于两型之间的界线类和属非特异性炎症的未定类，该两类可向两型转化。

1．瘤型（lepromatous type） 瘤型麻风患者有细胞免疫缺损，巨噬细胞功能低下。实验证明麻风分枝杆菌有某种成分可诱导抑制性 T 细胞或干扰巨噬细胞在病灶中的功能，故麻风菌素试验阴性，麻风分枝杆菌得以在细胞内大量繁殖。若局部注射 IFN-γ 可引起 T 细胞和巨噬细胞增殖，继而破坏带大量麻风分枝杆菌的巨噬细胞，使病菌明显减少。该型麻风分枝杆菌主要侵犯皮肤、粘膜。鼻粘膜涂片中可见有大量抗酸性细菌。传染性强，为开放性麻风。若不治疗，将逐渐恶化，累及神经系统。患者的体液免疫正常，血清内有大量自身抗体。自身抗体和受损组织释放的抗原结合，形成免疫复合物。沉淀在皮肤或粘膜下，形成红斑和结节，称为麻风结节（leproma），是麻风的典型病灶。面部结节融合可呈狮面状。

2．结核样型（tuberculoid type） 该型患者的细胞免疫正常。病变早期在小血管周围可见有淋巴细胞浸润，随病变发展有上皮样细胞和巨噬细胞浸润。细胞内很少见有麻风分枝杆菌。传染性小，属闭锁性麻风。病变都发生于皮肤和外周神经，不侵犯内脏。早期皮肤出现斑疹，周围神经由于细胞浸润变粗变硬，感觉功能障碍。有些病变可能与迟发型超敏反应有关。病变处常带有大量 γ/δ T 细胞，也可自行消退。该型稳定，极少演变为瘤型，故亦称良性麻风。

3．界线类（borderline form） 兼有瘤型和结核型的特点，但程度可以不同，能向两型分化。大多数患者麻风菌素试验阴性。但也有阳性。病变部位可找到含菌的麻风细胞。

4．未定类（indeterminate form） 属麻风病的前期病变，病灶中很少能找到麻风分枝杆菌。麻风菌素试验大多阳性，大多数病例最后转变为结核样型。

微生物学检查法 主要是标本涂片染色显微镜检查。

显微镜检查可从患者鼻粘膜或皮损处取材，用抗酸性染色后检查。一般瘤型和界线类患者标本中可找到细菌在细胞内存在，有诊断意义。结核样型患者中很少找到细菌。欲提高检查的阳性率，也可以用金胺染色后以荧光显微镜检查。

麻风菌素试验(lepromin test) 对诊断没有重要意义，因与结核菌有交叉反应，但

可用于麻风的分型和了解预后。方法是应用麻风结节经生理盐水提取制成麻风菌素(lepromin)作皮肤试验，取0.1ml注射于前臂皮内。反应有两种：一种为早期反应，出现于注射后3~4d，红肿直径5mm以上者为阳性，表明患者对麻风菌素敏感；另一种为后期反应，出现于3~4周，表明患者对麻风有免疫。

防治原则 麻风病目前尚无特异性预防方法。由于麻风分枝杆菌和结核分枝杆菌有共同抗原，曾试用卡介苗来预防麻风取得一定效果。该病防治特别要对密切接触者作定期检查。早发现，早治疗。治疗药物主要有砜类、利福平、氯苯吩嗪及丙硫异烟胺。目前多采用二、三种药联合治疗，以防止耐药性产生。

（林特夫）

第 15 章　动物源性细菌

动物源性细菌是人畜共患病的病原菌，即由一种病原菌同时可引起动物和人类的某些传染病，称为人畜（兽）共患病，其中绝大多数是以动物作为传染源的称为动物源性疾病（zoonosis）。由于人类直接接触病畜或其污染物及媒介动物叮咬等途径感染而致病，这些病主要发生在畜牧区或自然疫源地。动物源性细菌主要有布鲁菌、鼠疫耶氏菌和炭疽芽胞杆菌。

第一节　布 鲁 菌 属

布鲁菌属（*Brucella*）细菌是一类人畜共患传染病的病原菌，有 4 个生物种、13 个生物型，因最早由美国医师 David Bruce 首先分离出，故得名。本属使人致病的有牛布鲁菌（*B. abortus*，又称流产布鲁菌）、羊布鲁菌（*B. melitensis*）、猪布鲁菌（*B. suis*）和犬布鲁菌（*B. canis*），在我国流行占绝对优势的是羊布鲁菌病，其次为牛布鲁菌病。

一、生物学性状

形态与染色　革兰阴性小球杆菌或短杆菌。大小为 0.4～0.8×0.5～1.5μm。无芽胞，无鞭毛，光滑型菌有微荚膜。革兰染色经常着色不佳，故复染时间应适当延长至 3min 左右。

培养特性　需氧菌，牛布鲁菌在初分离时需 5%～10% CO_2。营养要求较高，在普通培养基上生长缓慢，如加入血清或肝浸液，或加硫胺、烟酸和生长素等可促进生长。最适生长温度为 35～37℃，最适 pH 为 6.6～6.8。经 37℃ 培养 48h 可长出微小、透明、无色的光滑型（S）菌落，经人工传代培养后可转变成粗糙型（R）菌落。两种菌落可用吖啶黄玻片凝聚试验鉴别，S 型在 1∶1000 的吖啶黄中呈均匀混浊，而 R 型菌出现凝块。布鲁菌在血琼脂平板上不溶血，在液体培养基中可形成轻度混浊并有沉淀。

生化反应　大多能分解尿素和产生 H_2S。根据产生 H_2S 的多少和在含碱性染料培养基中的生长情况，可鉴别羊、牛、猪等三种布鲁菌（表 15-1）。

抗原结构与分型　布鲁菌含有两种抗原物质，即 A 抗原和 M 抗原。两种抗原在不同的布鲁菌中含量不同，牛布鲁菌含 A（abortus）抗原多，故又称牛布鲁菌抗原；羊布鲁菌含 M（melitensis）抗原多故又称羊布鲁菌抗原。两种抗原量的比例不同可对菌种进行区别，如牛布鲁菌 A∶M＝20∶1，而羊布鲁菌 A∶M＝1∶20，猪布鲁菌 A∶M＝2∶1。

用A与M因子血清进行凝集试验可鉴别三种布鲁菌（表15-1)。

表15-1　主要布鲁菌的特性与鉴别

菌种	CO_2 需要	脲酶试验	H_2S 产生	含染料培养基中生长		凝集试验	
				复红（1:50000）	硫堇（1:20000）	抗A因子	抗M因子
羊布鲁菌	−	不定	−	+	+	−	+
牛布鲁菌	+	+	+	+	−	+	−
猪布鲁菌	−	+	+/−	−	+	+	+

抵抗力　抵抗力较强，在土壤、毛皮、病畜的脏器和分泌物、肉和乳制品中可生存数周至数月。但在湿热60℃、20min，日光直接照射下20min可死亡；对常用消毒剂均较敏感，如3%来苏作用数分钟可杀死。对常用的广谱抗生素也较敏感。

二、致病性与免疫性

致病物质　布鲁菌的主要致病物质是内毒素。荚膜与侵袭酶（透明质酸酶、过氧化氢酶等）增强了该菌的侵袭力，使细菌能通过完整皮肤、粘膜进入宿主体内，并在机体脏器内大量繁殖和快速扩散入血流。

所致疾病　布鲁菌感染家畜引起母畜流产，病原体可随流产的胎畜和羊水大量排出；病畜还可表现为睾丸炎、附睾炎、乳腺炎、子宫炎等，隐性感染的动物也可经乳汁、粪、尿等长期排菌。人类对布鲁菌易感，主要通过接触病畜及其分泌物或接触被污染的畜产品，经皮肤、粘膜、眼结膜、消化道、呼吸道等不同途径感染。

布鲁菌侵入机体经1～6周的潜伏期，此期细菌被中性粒细胞和巨噬细胞吞噬，成为胞内寄生菌，随淋巴流达局部淋巴结生长繁殖形成感染灶。当细菌繁殖达一定数量，突破淋巴结而侵入血流，出现菌血症。由于内毒素的作用致患者发热，随后细菌进入肝、脾、骨髓和淋巴结等脏器细胞，发热也渐消退。细菌在细胞内繁殖到一定程度可再度入血，又出现菌血症而致体温升高。如此反复形成的菌血症，使患者的热型呈波浪式，临床上称为波浪热。感染易转为慢性，在全身各处引起迁徙性病变，伴随发热、关节痛和全身乏力等症状，体征有肝、脾肿大。

和 IgG 类抗体，可发挥免疫调理作用。此外，细胞免疫和Ⅳ型超敏反应所导致的免疫保护及病理损害，在慢性与反复发作的病程中往往交织存在。

三、微生物学检查

标本 血液是最常用的标本，急性期血培养阳性率高达 70%。骨髓在急性期、亚急性期病人均可分离阳性。病畜的子宫分泌物、羊水，流产动物的肝、脾、骨髓等也可作为分离培养的标本。

分离培养与鉴定 将标本接种于双相肝浸液培养基（液相为肝浸液的琼脂斜面）置 37℃、5%～10% CO_2 孵箱中培养。菌落大多在 4～7d 形成，若 30d 时仍无菌生长可报告为阴性。若有菌生长，可根据涂片染色镜检，CO_2 的要求，H_2S 产生，染料抑菌试验，玻片凝集等确定型别。

血清学试验

1. 凝集试验 发病 1～7d 后血清中开始出现 IgM 抗体，将患者血清作倍比稀释，标准菌量为 1×10^9 个/ml，进行玻片凝集试验，1∶200 有诊断意义。但当效价≥1∶100 时应重复进行试管凝集试验，需要在 37℃水浴 16～20h 后观察结果，以 1∶200～1∶400 血清凝集者为阳性。用乳胶凝集试验可在 6min 内判定结果，方法简易可靠。

2. 抗球蛋白试验（Coombs 试验） 布鲁菌感染患者常出现不完全抗体，需用 Coombs 试验才能检出。在病程中凝集效价出现增长者有诊断意义。

3. 补体结合试验 一般发病 3 周后出现 IgG 抗体，由于此抗体能维持较长时间，故对诊断慢性布鲁菌病意义较大。此试验特异性高，试验结果以 1∶10 为阳性。

皮肤试验 取布鲁菌素（brucellin）或布鲁菌蛋白提取物 0.1ml 作皮内注射，24～48h 后观察结果。局部红肿浸润直径 1～2cm 者为弱阳性，＞2～3cm 为阳性，＞3～6cm 为强阳性。若红肿在 4～6h 内消退者为假阳性。皮试阳性可诊断慢性或曾患过布鲁菌病。

四、防 治 原 则

控制和消灭家畜布鲁菌病，切断传播途径和免疫接种是三项主要的预防措施。免疫接种以畜群为主，疫区人群也应接种减毒活疫苗（104M 株疫苗皮上划痕接种），有效期约一年。急性病人用抗生素治疗，慢性者除继续用抗生素治疗外，应采用综合疗法以增强机体免疫力，也可用特异性疫苗进行脱敏治疗。

第二节 耶尔森菌属

耶尔森菌属（*Yersinia*）细菌属于肠杆菌科，是一类革兰阴性小杆菌。包括 11 个菌种，其中鼠疫耶氏菌、小肠结肠炎耶氏菌与假结核耶氏菌等三种肯定是人类致病菌。本属细菌通常先引起啮齿动物、家畜和鸟类等动物感染，人类通过接触动物、被节肢动物叮咬或食入污染食物等途径感染。

一、鼠疫耶氏菌

鼠疫耶氏菌（*Y. pestis*）俗称鼠疫杆菌，是鼠疫的病原菌。鼠疫是一种自然疫源性的烈性传染病，历史上曾发生过三次世界性大流行。人类鼠疫是被疫鼠的鼠蚤叮咬而受染，1989～1998年世界各地报告鼠疫病例共5440余例，死亡681人，病死率11%。因此，鼠疫依然威胁着人类。

（一）生物学性状

形态与染色 为两端浓染的卵圆形短杆菌。大小为0.5～0.8×1～2μm。一般单个散在，偶尔成双或呈短链。有荚膜，无鞭毛，无芽胞。革兰染色阴性。从死于鼠疫的尸体或动物新鲜内脏制备的印片或涂片，形态典型，有时可见到吞噬细胞内外均有本菌。但在化脓或溃疡性病灶及腐败材料中可见菌体膨大成球形，且着色不佳。如在陈旧培养物或生长在含高盐（30g/L NaCl）的培养基上则呈多形态性，有球形、杆形、棒形和哑铃状等，亦可见到着色极浅的细菌轮廓，称菌影（ghost）。

培养特性 兼性厌氧，最适生长温度为27～30℃，最适pH为6.9～7.2。在普通培养基上能生长，但生长缓慢。在含血液或组织液的培养基上生长，24～48h可形成柔软、粘稠的粗糙型菌落。在肉汤培养基中开始呈混浊，24h后表现为沉淀生长，48h后逐渐形成菌膜，稍加摇动菌膜呈"钟乳石"状下沉，此特征有一定鉴别意义。

抗原结构 鼠疫耶氏菌的抗原结构复杂，至少有18种抗原，重要的有F1、V-W、外膜蛋白和MT等四种抗原（图15-1）。

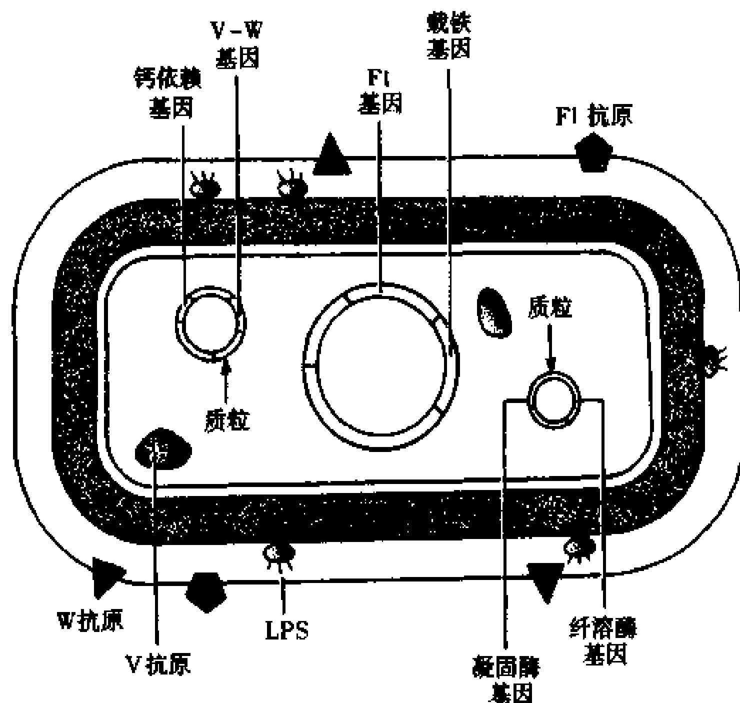


图15-1 鼠疫耶氏菌毒力因子的基因模式图

1. F1（fraction 1）抗原 是鼠疫耶氏菌的荚膜抗原，于37℃时产生，具有抗吞噬

和活化补体的作用。F1 的抗原性强，特异性高，其相应抗体具有免疫保护作用。但 F1 抗原是一种不耐热的糖蛋白，100℃ 15min 即失去抗原性。

2．V 和 W 抗原　系毒力质粒 DNA 编码。W 抗原位于菌体表面，是一种脂蛋白；V 抗原存在于细胞质中，为可溶性蛋白。两种抗原总是一起产生，与细菌毒力有关，使细菌具有形成肉芽肿损伤和在细胞内存活的能力，且有免疫抑制作用。

3．外膜蛋白（yersinia outer membrane protein，Yop）　其编码基因与 V-W 基因存在于同一质粒上，在 37℃ 和含 Ca^{2+} 条件下能产生数种外膜蛋白，这些蛋白能使细菌在突破宿主的防御机制，导致机体发病等方面具有重要作用。

4．鼠毒素（murine toxin，MT）　为可溶性蛋白，是一种外毒素，对鼠类有剧烈毒性，1μg 即可使鼠致死，它可阻断动物 β 肾上腺能神经和引起心脏损害，但对人的损伤作用尚不清楚。MT 具有良好的抗原性，用 0.2% 甲醛处理可使其脱毒制成类毒素，用于免疫动物制备抗毒素。

5．内毒素　其性质与肠道杆菌内毒素相似，可致机体发热，产生休克和 DIC 等。

抵抗力　对理化因素抵抗力较弱。湿热 70～80℃ 10min 或 100℃ 1min 死亡，5% 来苏或 5% 石炭酸 20min 内可将痰液中病菌杀死，但在自然环境中的痰液中能存活 36d，在蚤粪和土壤中能存活 1 年左右。

变异性　鼠疫耶氏菌通过自发或诱发性突变、转座子移位及基因转移等机制发生变异，其生化特性、毒力、耐药性和抗原结构等均可出现变异菌株。与多数肠道菌光滑（S）型菌落致病性强的特征不同，野生菌株的菌落呈粗糙（R）型。经人工传代培养后菌落逐渐变为 S 型，其毒力也随之减弱。

（二）致病性与免疫性

致病物质　鼠毒素主要对鼠类致病，具外毒素性质，但只有当细菌自溶裂解后才释放。鼠疫耶氏菌的毒力很强，少数几个细菌即可使人致病，其致病性主要与 F1 抗原、V-W 抗原、外膜抗原及内毒素等相关。

所致疾病　鼠疫是自然疫源性传染病，一般先在鼠类间发病和流行，通过鼠蚤的叮咬而传染人类，尤其当大批病鼠死亡后，失去宿主的鼠蚤转向人群。人患鼠疫后，又可通过人蚤或呼吸道等途径在人群间流行。临床常见有腺型、肺型和败血症型鼠疫。

鼠疫耶氏菌侵入人体，被吞噬细胞吞噬后能在细胞内生长繁殖，并沿淋巴流到达局部淋巴结，引起严重的淋巴结炎。侵犯的淋巴结多在腹股沟，一般为单侧，并引起肿胀、出血和坏死，称为腺鼠疫。如吸入染菌的尘埃则引起原发性肺鼠疫，也可由腺型或败血症型鼠疫蔓延而致继发性肺鼠疫。病人高热寒战，咳嗽、胸痛、咯血、呼吸困难，全身衰竭而出现严重中毒症状，多于 2～4d 内死亡。病人死亡后皮肤常呈黑紫色，故有“黑死病”之称。重症腺型或肺型鼠疫患者的病原菌可侵入血流，导致败血症型鼠疫，体温升高至 39～40℃，发生休克和 DIC，皮肤粘膜见出血点及淤斑，常并发支气管肺炎和脑膜炎等症状，多迅速恶化而死亡。

免疫性　鼠疫感染后能获得牢固免疫力，再次感染罕见。主要产生针对 F1 抗原、V-W 抗原的抗体等，具有调理促吞噬、凝集细菌及杀菌等作用。另外，尚依赖于吞噬

细胞吞杀细菌等细胞免疫的作用。

（三）微生物学检查

标本 按不同病型采取淋巴结穿刺液、痰、血液等。人或动物尸体取肝、脾、肺、肿大淋巴结和心血等。陈旧尸体取骨髓。因鼠疫为法定甲类烈性传染病，其传染性极强，除标本采取时要严格无菌操作和控制外，标本必须送指定的具有严格防护措施的专门实验室，并按严格操作规程进行。

直接涂片镜检 检材直接涂片或印片，分别进行革兰染色和美蓝染色，镜检观察典型形态与染色性。免疫荧光试验用于快速诊断。

分离培养与鉴定 将检材接种于血琼脂平板或0.025%亚硫酸钠琼脂平板等，经24h孵育后形成针尖样小菌落，经48h后才形成1～1.5mm灰白色较粘稠的粗糙型菌落。在液体培养基中孵育48h可形成“钟乳石”现象。当分离出可疑菌落时，可作涂片镜检，噬菌体裂解试验，血清凝集试验等进一步鉴定。

（四）防治原则 灭鼠灭蚤是切断鼠疫传播环节，消灭鼠疫源的根本措施。我国目前应用EV无毒株生产活疫苗，多用皮下、皮内接种或皮上划痕，免疫力可维持8～10个月。此外，应加强国境、海关检疫。

治疗必须早期足量用药，采用磺胺类、链霉素、氯霉素、氨基糖苷类抗生素等均有效。

二、小肠结肠炎耶氏菌

小肠结肠炎耶氏菌（*Y. enterocolitica*）是引起人类严重的小肠结肠炎的病原菌。本菌天然定植在多种动物体内，如鼠、兔、猪等，通过污染食物（牛奶、肉类等）和水，经粪口途径感染或因接触染疫动物而感染。近年来本菌中某些血清型引起的肠道感染正逐渐上升。

（一）生物学性状

形态与染色 革兰阴性球杆菌，偶见两端浓染。无芽胞、无荚膜，25℃培养时有周身鞭毛，但37℃培养时则很少或无鞭毛。

培养特性 兼性厌氧。耐低温，在4℃能生长，但最适温度为20～28℃，最适pH7.6。在普通琼脂培养基上生长良好。某些菌株在血琼脂平板上可出现溶血环，在肠道菌选择培养基上形成不发酵乳糖的无色半透明、扁平的小菌落。

血清型 根据菌体O抗原可分为50多个血清型，但仅几个血清型与致病有关，且致病型别各地区也不同。我国主要为0:9、0:8、0:5和0:3等。此外有毒力菌株大都具有V和W抗原、肠毒素等。

（二）致病性

致病物质 本菌为一种肠道致病菌，具有侵袭性及产毒素性。V-W抗原具有抗吞噬作用。0:3、0:8、0:9等菌株产生耐热性肠毒素，与大肠埃希菌肠毒素ST相似。另外，某些菌株的O抗原与人体组织有共同抗原，可刺激机体产生自身抗体，引起自身免疫性疾病。

所致疾病　本菌为人畜共患病原菌。人类通过食用污染的食物和水而受染，潜伏期3～7d，临床表现以小肠、结肠炎为多见，也见有败血症者。临床上可出现发热，腹泻为粘液或水样便，易与志贺菌痢混淆。根据病变位置与发病机制不同，可将小肠结肠炎分为四型：①胃肠炎（或小肠结肠炎）型；②回肠末端炎、阑尾炎和肠系膜淋巴结炎型；③结节性红斑与关节炎型（自身免疫病）；④败血症型。

（三）微生物学检查

标本取粪便、血液和剩余食物等，根据该菌嗜冷特性，将标本置pH 7.4～7.8的磷酸盐缓冲液中，于4℃增菌2～3周；再用耶氏菌专用选择培养基置25℃培养24～48h，

用作热力灭菌实验的代表菌株，以测试灭菌器的效果等。这些腐生菌也常是实验室及制剂生产车间的主要污染菌。

一、炭疽芽胞杆菌

炭疽芽胞杆菌（*B. anthracis*）是动物和人类炭疽病的病原菌，是人类历史上第一个被发现的病原菌，俗称炭疽杆菌。牛与羊等草食动物的发病率最高，人可通过摄食或接触患炭疽病的动物及畜产品而感染，传播方式多样，多见皮肤炭疽，也有肠炭疽、肺炭疽和脑膜炎炭疽等。

（一）生物学性状

形态与染色　炭疽芽胞杆菌是致病菌中最大的革兰阳性粗大杆菌，1～3×5～10μm，两端截平，无鞭毛。取自病人或病畜新鲜标本直接涂片时，常单个或呈短链，经培养后则形成长链，呈竹节样排列（图 15-2）。芽胞在有氧条件下形成，呈椭圆形，位于菌体中央。有毒菌株在人和动物体内或含血清的培养基中可形成荚膜。

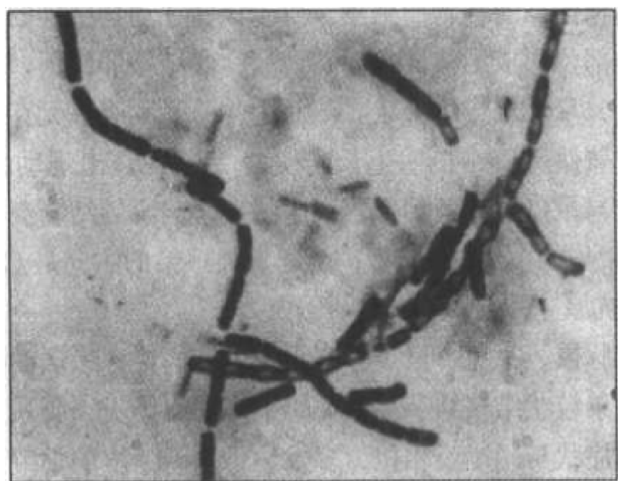


图 15-2　炭疽芽胞杆菌（×1 000）

培养特性　需氧或兼性厌氧，最适温度为 30～35℃，在普通琼脂培养基上培养 24h，形成灰白色粗糙型菌落，边缘不整齐，在低倍镜下观察边缘呈卷发状。在血琼脂平板上不溶血。在肉汤培养基中由于形成长链而呈絮状沉淀生长。在明胶培养基中经 37℃培养 24h 可使表面液化呈漏斗状，由于细菌沿穿刺线向四周扩散成倒松树状。有毒菌株在含 $NaHCO_3$ 的血琼脂平板上，置 5%CO_2 孵箱 37℃孵育 24～48h 可产生荚膜，变为粘液性菌落，用接种针挑取时可见拉丝状。而无毒株仍形成粗糙型菌落。

抗原结构　炭疽芽胞杆菌的抗原分为两部分，一部分是结构抗原，包括荚膜、菌体和芽胞等抗原成分，另一部分是外毒素复合物。

1. 荚膜多肽抗原　由 D 谷氨酸多肽组成。具抗吞噬作用，与细菌毒力有关。若以高效价抗荚膜多肽血清作荚膜肿胀试验，对鉴定本菌有一定意义。

2. 菌体多糖抗原　由 N-乙酰葡糖胺、D-半乳糖组成，与毒力无关。由于耐热，此抗原在病畜皮毛或腐败脏器中虽经长时间煮沸仍可与相应抗体发生沉淀反应，称 Ascoli

热沉淀反应，对追溯炭疽芽胞杆菌病原方面起了很大作用。但由于此抗原特异性不高，与其它需氧性芽胞杆菌、14 型肺炎链球菌，甚至人类 A 血型抗原之间发生交叉反应，故 Ascoli 反应目前已很少使用。

3．芽胞抗原　由芽胞的外膜、皮质等组成的芽胞特异性抗原，具有免疫原性和血清学诊断价值。

4．炭疽毒素　由保护性抗原、致死因子和水肿因子三种蛋白质组成的复合物，注射给实验动物可出现炭疽病的典型中毒症状。但致死因子和水肿因子单独作用不会发挥生物学活性，都必须与保护性抗原组合后才能引起实验动物的水肿和致死。炭疽毒素具有抗吞噬作用和免疫原性，免疫注射后使豚鼠对炭疽芽胞杆菌的感染具有一定的保护作用。

抵抗力　由于本菌能产生芽胞，故抵抗力很强，煮沸 10min 或干热 140℃ 需 3h 才能杀灭。芽胞对化学消毒剂的抵抗力也很强，如 5% 石炭酸需 5d 始可杀死。但对碘及氧化剂较敏感，1∶2500 碘液 10min、3% H_2O_2 1h、0.5% 过氧乙酸 10min 即可杀死。细菌芽胞在干燥土壤或皮毛中能存活数年至 20 余年，牧场一旦被污染，传染性可持续数十年。本菌对青霉素、红霉素、氯霉素等均敏感。若在含微量（0.05～0.5 单位/ml）青霉素的培养基上，链杆菌排列的细菌形态发生变异，变成大而均匀呈链状的串珠状，称串珠试验。对本菌有鉴别意义，其他需氧芽胞杆菌无此现象。

（二）致病性与免疫性

致病性　炭疽芽胞杆菌主要致病物质是荚膜和炭疽毒素。控制荚膜产生的基因在质粒 DNA 上。荚膜有抗吞噬作用，有利于细菌在宿主组织内繁殖扩散。炭疽毒素是造成感染者致病和死亡的主要原因，毒性作用直接损伤微血管内皮细胞，增加血管通透性而形成水肿。由于有效循环血量不足，微循环障碍致感染性休克和 DIC，甚至致死。

所致疾病　炭疽芽胞杆菌主要为草食动物（牛、羊、马等）炭疽病的病原菌，人因接触患病动物或受染皮毛而引起皮肤炭疽，食入未煮熟的病畜肉类、奶或被污染食物引起肠炭疽，或吸入含有大量病菌芽胞的尘埃可发生肺炭疽。上述三型均可并发败血症，偶见引起炭疽性脑膜炎，死亡率极高。

皮肤炭疽最为多见，细菌由颜面、四肢等皮肤小伤口侵入，经 1d 左右局部出现小痂，继而周围形成水疱、脓疱、最后形成坏死、溃疡并形成特有的黑色焦痂，故名炭疽。肠炭疽出现连续性呕吐，肠麻痹及血便，但以全身中毒为主，2～3d 死于毒血症。肺炭疽出现呼吸道症状，很快也出现全身中毒症状而死亡。

免疫性　感染炭疽后可获得持久性免疫力。一般认为免疫与机体针对保护性抗原产生保护性抗体及增强吞噬细胞的吞噬功能有关。

（三）微生物学检查

标本　根据炭疽病型采取不同标本。人类皮肤炭疽取水疱、脓疱内容物或血液；肠炭疽取粪便、血液及畜肉等；肺炭疽取痰、胸腔渗出液及血液等；脑膜炎炭疽取脑脊液。炭疽动物尸体严禁室外剖检，以防形成芽胞污染牧场及环境；一般在无菌条件下割取耳尖或舌尖组织送检。

直接涂片镜检 取标本涂片进行革兰染色，发现有荚膜的呈竹节状排列的革兰阳性大杆菌，或用特异性荧光抗体染色镜检，结合临床症状可作出初步诊断。

分离培养与鉴定 检材接种于血琼脂平板和碳酸氢钠琼脂平板，孵育后观察菌落，用青霉素串珠试验、噬菌体裂解试验等进行鉴定。此外，也可用免疫荧光法检查病人的荚膜抗体，用ELISA检查保护性抗体。必要时进行动物试验。本菌与其他需氧芽胞杆菌的鉴别见表15-2。

表15-2 炭疽芽胞杆菌与其他需氧芽胞杆菌的鉴别

性　状	炭疽芽胞杆菌	其他需氧芽胞杆菌
荚膜	+	-
动力	-	+
血平板	不溶血或微溶血	多为迅速而明显溶血
$NaHCO_3$ 琼脂平板	粘液型菌落（有毒株）	粗糙型菌落
青霉素串珠试验	+	-
噬菌体裂解试验	+	-
动物致病力试验	+	-/+

（四）防治原则 炭疽的预防重点应放在家畜感染的防治和牧场的卫生防护上。病畜应严格隔离或处死深埋，杜绝在无防护条件下现场剖检取材，死畜严禁剥皮或煮食，必经焚毁或深埋2m以下。对易感家畜应进行预防接种。

特异性预防用炭疽减毒活疫苗，皮上划痕接种，免疫力可持续1年。接种对象是疫区皮革、毛纺工人、牧民、屠宰牲畜人员、兽医等。治疗以青霉素首选，也可选用其他广谱抗生素。

二、蜡样芽胞杆菌

蜡样芽胞杆菌（*B. cereus*）为革兰阳性大杆菌，生长6h后即形成椭圆形芽胞，位于菌体中央或次末端。在普通琼脂平板上生长良好，菌落较大，灰白色，表面粗糙似融蜡状，故名。本菌广泛分布于土壤、水、尘埃、淀粉制品、乳和乳制品等食品中。

蜡样芽胞杆菌引起食物中毒必须达到一定的感染量即食物中含菌量达10^6/g以上才能发病。食物中毒分两种类型：①呕吐型：由耐热的肠毒素引起，于进餐1～6h发病，主要是恶心、呕吐，仅有少数有腹泻。类似于葡萄球菌的食物中毒，病程平均不超过10h。②腹泻型：由不耐热肠毒素引起，进食后发生胃肠炎症状，主要为腹痛、腹泻和里急后重，偶有呕吐和发热。此外，该菌有时也是外伤后眼部感染的常见病原菌，引起全眼球炎。在免疫功能低下或应用免疫抑制药的患者中还可引起心内膜炎、败血症和脑膜炎等。

发生食物中毒时采取可疑食物或收集粪便及呕吐物进行检验。除进行分离培养外，须作活菌计数，因暴露于空气中的食物会在一定程度上受本菌污染，故不能因分离出蜡

样芽胞杆菌就认为是食物中毒的病原菌。根据形态、染色性、菌落特征及生化型、血清型和噬菌体分型作鉴定。本菌对红霉素、氯霉素和庆大霉素敏感，对青霉素、磺胺类耐药。

第四节　弗朗西丝菌属

弗朗西丝菌属（*Francisella*）是一类呈多形性的革兰阴性小杆菌，本属有土拉弗氏菌和新凶手弗氏菌两个种。其中土拉弗氏菌（*F. tularesis*）为土拉热的病原体，有两个主要的生物型。本菌引起一些野生动物的感染，特别常见于野兔中，故俗称野兔热杆菌，人类常因接触野生动物或病畜引起土拉热。

土拉弗氏菌

生物学特性　球杆状小杆菌，大小为 0.2～0.3×0.3～0.7μm 。经人工培养后呈显著多形态性。无芽胞、无动力，在动物组织内有荚膜。

需氧，最适温度为 35～37℃。在普通培养基上不易生长，常用卵黄培养基或胱氨酸血琼脂培养基，孵育 24～48h 形成灰白色细小、光滑，略带粘性的菌落。

对热敏感，56℃ 5～10min 即死亡。在 20～25℃ 水中可存活 1～2 个月，但对低温有很强的耐受力，在 4℃ 水中或湿土中可存活 4 个月，在 0℃ 以下可存活 9 个月。对一般化学消毒剂敏感。

致病性与免疫性　野兔、鼠类等多种野生动物和家畜都可感染土拉弗氏菌。动物之间主要通过蜱、蚊、蚤、虱等吸血节肢动物叮咬传播，人类也易感，可通过多种途径感染，如直接接触患病的动物或被动物咬伤、节肢动物叮咬、食入污染食物，亦可经空气传播引起呼吸道感染。

土拉弗氏菌的致病物质主要是荚膜和内毒素。细菌侵袭力强，能穿过完整的皮肤和粘膜。另外，菌体多糖抗原可引起速发型超敏反应，蛋白质抗原可引起迟发型超敏反应等也参与致病。

人感染后潜伏期一般为 2～10d，发病较急，临床表现为发热、剧烈头疼、关节痛等，重者出现衰竭与休克。由于感染途径不同，临床类型可多样化，有溃疡腺型、胃肠型、肺型和伤寒中毒型等。

病后 2～3 周出现 IgM 和 IgG 抗体，可持续存在多年，但无保护作用。土拉弗氏菌为细胞内寄生菌，抗感染当以细胞免疫为主。

诊断与治疗　采取病人血液、组织穿刺液或活检组织检查。组织标本的革兰染色镜检价值不大，可用免疫荧光染色镜检，但与军团菌、布鲁菌等有交叉反应，应注意假阳性的出现。

分离培养较困难，可接种于卵黄培养基或胱氨酸葡萄糖血琼脂，37℃ 孵育至少需 3 周。除观察典型菌落外，可取培养物用本菌的抗血清作玻片凝集试验进行鉴定。血清学试验是土拉热诊断最常用的方法，在病程中血清凝集效价呈 4 倍或以上增长或单份血清效价达 1:160 才有诊断意义。

预防可用减毒活疫苗经皮上划痕接种。治疗可选用广谱抗生素。

第五节　巴斯德菌属

巴斯德菌属（*Pasteurella*）为革兰阴性、卵圆形或杆状细菌，常寄生于哺乳动物和鸟类上呼吸道和肠道粘膜上。对人类致病的仅有多杀巴氏菌（*P. multocida*）和新 1 号巴氏菌（*P. newspecies 1*）两种。这两种均为革兰阴性球杆菌，常呈两极浓染，无鞭毛，无芽孢，有荚膜。营养要求较高，需在含血的培养基上生长，在血平板上形成白色、不溶血的半透明小菌落。

本菌为动物源性细菌，致病物质为荚膜与内毒素。可引起低等动物的败血症和鸡霍乱。人可通过接触染病的动物而感染，所致疾病有伤口感染、脓肿、肺部感染、脑膜炎、腹膜炎、关节炎等。

实验室检查应采取患者血、痰、脑脊液或脓等直接涂片染色镜检，并接种血平板作分离培养。根据菌落特征和形态染色的结果，再作生化反应和血清学试验进行鉴定。治疗上应选择广谱抗生素。

（张卓然）

第16章 其他细菌

第一节 弯曲菌属

弯曲菌属（*Campylobacter*）是一类呈逗点状或S形的革兰阴性杆菌。有13个种，广泛分布于动物界，可引起动物和人类的腹泻、胃肠炎和肠道外感染。对人致病的有空肠弯曲菌、大肠弯曲菌、胎儿弯曲菌等，其中以空肠弯曲菌（*C. jejuni*）最重要。

空肠弯曲菌

生物学特性 形态细长，呈弧形、螺旋形、S形或海鸥状。运动活泼，一端或两端有单鞭毛。无芽胞，无荚膜，革兰阴性。

微需氧，需在5%O_2、10%CO_2和85%N_2的环境中生长。在36～37℃生长良好，但在42℃中选择性好，此温度可使粪便中其他细菌的生长受到抑制。营养要求高，用含血清的培养基培养后，在同一培养基上可出现两种菌落，一种为灰白、湿润、扁平边缘不整的蔓延生长的菌落；另一种为半透明、圆形、凸起、有光泽的细小菌落。

生化反应不活泼，不发酵糖类，氧化酶阳性，马尿酸盐水解试验阳性。

有菌体（O）抗原、热不稳定抗原和鞭毛（H）抗原。根据（O）抗原不同将空肠弯曲菌分为42个血清型。

抵抗力较弱。培养物放置冰箱中很快死亡，56℃ 5min即被杀死。干燥环境中仅存活3h，培养物放室温可存活2～24周。

致病性与免疫性 空肠弯曲菌引起胃肠道感染主要是该菌产生细胞毒素和一种不耐热肠毒素，后者与大肠埃希菌的LT和霍乱肠毒素有部分抗原交叉。

空肠弯曲菌是引起散发性细菌性肠炎最常见的菌种之一。该菌常通过污染饮食、牛奶、水源等被食入，或与动物直接接触被感染。由于空肠弯曲菌对胃酸敏感，经口食入至少10^4个细菌才有可能致病，该菌在小肠内繁殖，侵入肠上皮引起炎症。临床表现为痉挛性腹痛、腹泻、血便或果酱样便，量多；头痛、不适、发热。通常该病自限，病程5～8d。

机体感染空肠弯曲菌后可产生特异性抗体，能通过调理作用和活化补体等作用增强吞噬细胞的吞噬、杀灭细菌及补体的溶菌作用。

诊断与防治 可用粪便标本涂片、镜检，查找革兰阴性弧形或海鸥状弯曲菌，或用悬滴法观察鱼群样运动或螺旋式运动。分离培养可直接用选择性培养基，于42℃和

37℃微需氧环境下培养，可见两种类型的菌落。鉴定用马尿酸水解试验、醋酸吲哚酚水解试验等生化反应以及PCR法直接检出粪便中的弯曲菌。

目前尚无特异性疫苗。预防主要是注意饮水和食品卫生，加强人、畜、禽类的粪便管理。治疗可用红霉素、氨基糖苷类抗生素、氯霉素等。

第二节　螺 杆 菌 属

螺杆菌属（*Helicobacter*）是从弯曲菌属中划分出来的新菌属，只在37℃生长而在25℃和42℃均不能生长的革兰阴性螺形杆菌。至少有9个种，代表菌种是幽门螺杆菌（*H. pylori*）。它与胃窦炎、十二指肠溃疡和胃溃疡关系密切，可能与胃癌的发生也有关。

幽门螺杆菌

生物学特性　革兰阴性。菌体细长弯曲呈螺形、S形或海鸥状，大小为0.3～1.0×2.0～5.0μm。在胃粘膜粘液层中常呈鱼群样排列，传代培养后可变成杆状或球形。菌体一端或两端可有多根带鞘鞭毛，运动活泼。

微需氧菌。最适生长温度为35～37℃。营养要求高，需血液或血清，生长时还需一定湿度（相对湿度98%）。培养3d可见细小、针尖状、半透明的菌落。

生化反应不活泼，不分解糖类，氧化酶和过氧化氢酶均阳性，脲酶丰富，快速脲酶试验强阳性。幽门螺杆菌菌株具有共同抗原，其表面蛋白在不同株之间相似，电泳时出现4条主要区带。用免疫印迹分析证明幽门螺杆菌与空肠弯曲菌等的菌体外膜蛋白不出现交义反应，但其鞭毛蛋白具有明显的交叉反应。

致病性与免疫性　幽门螺杆菌病的确切机制尚未完全阐明，引起胃炎与消化性溃疡可能是多种因子的协同作用，如粘附素、脲酶、蛋白酶、细胞毒素和内毒素等的毒害作用。幽门螺杆菌存在于胃粘膜，与人类B型慢性胃炎、消化性溃疡等密切相关。在胃炎和胃溃疡患者的胃粘膜中，本菌的检出率高达80%～100%。另据研究，幽门螺杆菌感染是胃癌的危险因子。幽门螺杆菌阳性的宿主常出现胃上皮细胞增生，幽门螺杆菌感染时胃内亚硝胺、亚硝基化合物增多，一氧化氮的合成可致DNA亚硝化脱氨作用，从而有可能使细胞发生突变。有报道在cagA基因阳性菌株感染的患者中，有62%出现萎缩性胃炎，2%发展为胃癌，故认为cagA基因与胃癌发生可能相关。

感染幽门螺杆菌后，在病人血液和胃液中能检出特异性IgG、IgM和IgA抗体；亦产生多种细胞因子，但各作用不同，如IL-2、IL-6可能对抗感染有利，而IL-8、TNF等可能与致病有关。

诊断与防治　组织活检标本可用于组织学检查或将活检组织磨碎用于分离培养、血液用于测抗体含量。快速诊断方法有：①直接涂片镜检：为革兰阴性，细长弯曲呈海鸥状细菌。②快速脲酶分解试验：用尿素培养基，如培养基由黄变红为阳性。③血清学诊断：检测血清中抗幽门螺杆菌菌体抗体与抗脲酶抗体。④分子生物学技术：用16S

rRNA寡核苷酸探针或用PCR检测幽门螺杆菌。分离培养则用选择培养基在微需氧和湿润的环境中，35℃孵育4d观察菌落。再以氧化酶、过氧化氢酶及脲酶试验进行鉴定。

目前正在试用重组脲酶幽门螺杆菌疫苗，初步结果提示可能疫苗不仅有预防作用，同时还具有治疗作用。治疗可用抗菌疗法，多采用以胶体次枸橼酸铋或抑酸剂为基础，再加两种抗生素的三联疗法。

第三节　假单胞菌属

假单胞菌属（*Pseudomonas*）是一类革兰阴性、无芽胞、有荚膜和鞭毛，需氧，直或微弯的杆菌。分布广泛，种类繁多，到目前为止已超过200种，与人类关系较大的有铜绿假单胞菌，荧光假单胞菌和类鼻疽假单胞菌等。

铜绿假单胞菌

铜绿假单胞菌（*P. aeruginosa*）俗称绿脓杆菌，广泛分布于自然界，是一种常见的条件致病菌。由于在生长过程中产生绿色水溶性色素，感染后使脓汁或敷料出现绿色，故得名。

生物学特性　革兰阴性，大小为0.5～1.0×1.5～3.0μm的直或微弯杆菌。无芽胞，有荚膜，单端有1～3根鞭毛，运动活泼。临床分离的菌株常有菌毛。

需氧，在普通培养基上生长良好。最适生长温度为35℃，在4℃不生长而在42℃可生长是铜绿假单胞菌的一个特点。菌落大小不一，扁平湿润，边缘不齐，产生带荧光的水溶性色素（青脓素与绿脓素）而使培养基呈亮绿色。在血琼脂平板上产生透明的溶血环。在液体培养基中呈混浊生长，常在其表面形成菌膜。铜绿假单胞菌分解葡萄糖，产酸不产气，但不分解甘露醇、麦芽糖、蔗糖和乳糖。多数菌不液化明胶。铜绿假单胞菌分解尿素，氧化酶阳性，不形成吲哚。

铜绿假单胞菌抵抗力较其他革兰阴性菌强，耐许多化学消毒剂与抗生素，56℃需1h杀死细菌。

铜绿假单胞菌有O和H抗原。O抗原包括两种成分，一种是内毒素脂多糖，另一成分是原内毒素蛋白（original endotoxin protein，OEP）。OEP是一种高分子抗原，具有强免疫原性，其抗体不仅对同一血清型细菌有特异性保护作用，且对不同血清型的细菌也有共同保护作用。OEP广泛存在于一些革兰阴性菌中，包括其他种类的假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克氏菌和霍乱弧菌等，是一种极有意义的类属抗原。

致病性与免疫性　主要致病物质是内毒素，此外尚有菌毛、荚膜、胞外酶和外毒素等多种致病因子（表16-1）。

铜绿假单胞菌分布广泛，水、空气、土壤，医院环境中都存在此菌，同时也是人体的正常菌群。本菌的感染多见于皮肤粘膜受损部位，如烧伤、创伤等，也见于因长期化疗或使用免疫抑制剂的患者。在医源性感染中由本菌引起者约占10%，在某些特殊病

表 16-1　铜绿假单胞菌的致病物质

致病物质	生物学活性
菌毛	对宿主细胞具有粘附作用
荚膜多糖	抗吞噬作用
内毒素	致发热、休克、DIC 等
毒素 A	抑制蛋白质合成
胞外酶 S	抑制蛋白质合成
弹性蛋白酶	损伤血管，抑制中性粒细胞功能
碱性蛋白酶	损伤组织、抗补体、灭活 IgG 抑制中性粒细胞功能
磷酸脂酶 C	组织损伤
杀白细胞素	抑制中性粒细胞功能和淋巴细胞功能

房中，如烧伤和肿瘤病房、各种导管和内窥镜的治疗与检查室内，本菌感染率可高达30%。

本菌几乎可感染人体的任何组织和部位，经常引起手术切口、烧伤组织感染，表现为局部化脓性炎症。也可引起中耳炎、角膜炎、尿道炎、胃肠炎、心内膜炎、脓胸，以及菌血症、败血症。本菌尚可引起婴儿严重的流行性腹泻。

中性粒细胞的吞噬作用在抗铜绿假单胞菌感染中起着重要的作用。感染后产生的特异性抗体，尤其分泌型 IgA 的粘膜表面免疫作用，也有一定的抗感染作用。

诊断与防治　按疾病和检查目的不同分别采取标本。①炎症分泌物、脓液、血液、脑脊液等；②医院病区或手术室的物品、医疗器材等。

将标本接种于血琼脂平板，培养后根据菌落特征，色素及生化反应等鉴定。血清学、绿脓菌素及噬菌体分型可供流行病学、医院内感染追踪调查等使用。

已研制出多种铜绿假单胞菌疫苗，其中以 OEP 疫苗具有不受菌型限制，保护范围广，毒性低等优点。铜绿假单胞菌可由各种途径传播，主要是通过污染医疗器具及带菌医护人员引起的医源性感染，应对医院感染予以重视。治疗可选用庆大霉素、多粘菌素等。

第四节　嗜血杆菌属

嗜血杆菌属（*Haemophilus*）是一类革兰阴性小杆菌，常呈多形态性。无鞭毛、无芽胞。生长需求较高，在人工培养时需新鲜血液才能生长，故名。新鲜血液中含有该菌的生长因子 X 和 V，X 因子是一种高铁血红素（hematin），V 因子是辅酶Ⅰ或Ⅱ（NAD 或 NADP）。根据对 X 因子和 V 因子的需求不同，将本属分为 17 个种。对人具有致病的有流感嗜血杆菌，埃及嗜血杆菌、杜克嗜血杆菌等（表 16-2）。

表 16-2　常见嗜血杆菌的生长需求及致病性

菌　种	生　长　需　要			溶　血	致　病　性
	X因子	V因子	CO_2		
流感嗜血杆菌	+	+	-	-	原发性化脓感染、继发性肺炎
埃及嗜血杆菌	+	+	-	-	眼结膜炎
杜克嗜血杆菌	+	-	+	+/-	软性下疳
副流感嗜血杆菌	-	+	-	-	细菌性心内膜炎
嗜沫嗜血杆菌	+	-	+	-	细菌性心内膜炎
溶血性嗜血杆菌	+	+	-	-	很少致病

流感嗜血杆菌

流感嗜血杆菌（*H. influenzae*）俗称流感杆菌。1892 年波兰细菌学家 Pfeiffer 首先从流行性感冒患者鼻咽部分离出，当时被误认为是流感的病原菌。直至 1933 年流感病毒分离成功，才确定了流感的真正病原，但流感嗜血杆菌这一错名却仍沿用至今。现知此菌可引起小儿急性脑膜炎、鼻咽炎、中耳炎等化脓性疾病：在患流感时它可作为继发性感染的病原菌。

生物学特性　革兰阴性小杆菌，大小为 0.3~0.4×1.0~1.5μm。在急性感染标本如脑脊液中多为短小杆菌，在恢复期病灶或长期人工传代培养常呈球杆状，长杆状和丝状等多形态。无鞭毛或芽胞，有毒株在营养丰富的培养基上生长 6~18h 出现明显荚膜。在陈旧培养基上荚膜常消失。多数菌株有菌毛。

需氧或兼性厌氧。最适生长温度为 33~37℃。生长需要 X 和 V 因子。X 因子是血红素及其衍生物，耐热，120℃、30min 不被破坏，是细菌合成过氧化氢酶、过氧化物酶、细胞色素氧化酶等呼吸酶的辅基；V 因子是辅酶Ⅰ或Ⅱ，耐热性差，120℃ 15min 即被破坏，在细胞呼吸中起递氢作用。但血液中的 V 因子通常处于被抑制状态，加热 80~90℃ 10min 破坏红细胞膜上的不耐热抑制物，可使 V 因子释放，故流感嗜血杆菌在加热血琼脂平板即巧克力（色）平板上生长较佳，35℃ 培养 18~24h 可见 0.5~1.0mm 直径的菌落，呈灰白色、圆形、光滑。有荚膜菌株的菌落呈轻度粘稠。当流感嗜血杆菌与金黄色葡萄球菌在血平板上共同孵育时，由于后者能合成较多的 V 因子，在金黄色葡萄球菌菌落周围生长的流感嗜血杆菌的菌落较大，离金黄色葡萄球菌菌落越远的越小，此称为卫星现象。(satellite phenomenon)，有助于对流感嗜血杆菌的鉴定。

流感嗜血杆菌有两种主要抗原：①荚膜多糖抗原　具有型特异性。可将有荚膜的流感杆菌分为 a、b、c、d、e、f 6 个型，其中 b 型致病力最强，也是引起儿童感染最常见的菌型。流感嗜血杆菌与肺炎链球菌的荚膜多糖有部分共同，如 b 型与肺炎链球菌 15 型 A、35 型 B、6 型和 29 型之间有交叉反应。②菌体抗原：主要指外膜蛋白抗原，可用于流行病学调查。

流感嗜血杆菌抵抗力弱，50～55℃ 30min 可被杀死。对一般消毒剂敏感。在干燥痰中生存时间不超过 48h。对青霉素和氯霉素易产生耐药性，其耐药性由 R 质粒决定。

致病性与免疫性 主要致病物质为荚膜、菌毛与内毒素等。致病力强的流感嗜血杆菌产生 IgA 蛋白酶，能分解破坏分泌型 IgA。

流感嗜血杆菌在呼吸道定植者可达人群的 50%，但有荚膜的 b 型株定植者不多。所致疾病分为原发性与继发性感染两类。原发性（外源性）感染多为有荚膜的 b 型菌株引起的急性化脓性感染，如脑膜炎、鼻咽炎、咽喉会厌炎、关节炎、心包炎等，以少儿多见。继发性（内源性）感染常继发于流行性感冒、麻疹、百日咳、结核病等，大多由无荚膜菌株引起。临床类型有慢性支气管炎、中耳炎、鼻窦炎等，多见于成年人。

抗流感嗜血杆菌的免疫以体液免疫为主，抗荚膜多糖抗体能增强吞噬作用，并能活化补体产生溶菌作用，抗外膜蛋白抗原的抗体也有促进补体介导的吞噬作用。

诊断与防治 标本有痰液、脑脊液、鼻咽分泌物、血液和脓液等。脑脊液和脓汁标本直接涂片镜检结合临床症状，可作出初步诊断。脑脊液离心沉淀物发现可疑菌时，亦可同时用型特异血清进行荚膜肿胀试验，以达快速鉴定的目的。分离培养可将检材接种于巧克力（色）培养基或琼脂平板上，35℃培养 24～48h，根据菌落形态、生化反应等特征以及卫星现象、荚膜肿胀试验予以鉴定。

有 O 和 H 抗原，根据 O 抗原分为 15 个血清型，其中 1 型就是 1976 年军团病的病原菌。在我国分离较多的嗜肺军团菌为 1 型（Lp1）和 6 型（Lp6）。在 Lp1～10 血清型都具有 29kDa 外膜蛋白成分，此成分是机体应答反应的主要免疫原。

嗜肺军团菌在自然界广泛存在，在人工管道的水源中常见，如医院空调冷却水、淋浴头、辅助呼吸机等所产生的气溶胶颗粒中均常有此菌。对常用化学消毒剂敏感，1% 来苏处理数分钟即可杀死，但对氯作用的抵抗力比肠道菌大，于 21℃ 时水中含 0.1mg/

毛，光滑型菌株有荚膜。营养要求很高，初次分离培养需用含甘油、马铃薯、血液的鲍-金（Bordet-Gengou）培养基。35～37℃培养3～5d后形成细小、光滑、隆起、有珠光色泽的菌落，周围有不明显的溶血环。不发酵糖类。新分离菌株为光滑型，称Ⅰ相菌，具有菌体（O）和表面（K）抗原。Ⅰ相菌有毒力，人工培养后可发生变异，表现为荚膜和菌毛的逐渐消失，形态、菌落、溶血性、抗原结构、致病力等也全面变异，Ⅱ、Ⅲ相为过渡相，Ⅳ相即为粗糙型菌落的无毒株。

致病性与免疫性　细菌一般不侵入血液，致病物质包括荚膜、菌毛、内毒素及多种生物活性物质。①百日咳毒素：为外毒素，是百日咳的主要毒力因子，与细菌附着纤毛上皮细胞及引起阵发性咳嗽有关。②腺苷酸环化酶毒素（adenylcyclase toxin）：可致吞噬细胞内cAMP水平提高而抑制巨噬细胞的氧化活性，抑制中性粒细胞的趋化、吞噬及杀伤作用，抑制NK细胞的杀细胞作用。③丝状红细胞凝集毒素：促进细菌对纤毛上皮细胞的粘附。④气管细胞毒素 ：对气管纤毛上皮细胞有特殊亲合力，低浓度时抑制纤毛的摆动，高浓度时使之细胞坏死脱落。⑤皮肤坏死毒素：不耐热，能引起外周血管收缩，白细胞渗出血管外或出血，致局部组织缺血、坏死等。

百日咳鲍特菌是百日咳的病原菌，传染源主要是早期病人和带菌者。病程分为三期：①卡他期：类似普通感冒，如低热、咳嗽、打喷嚏等，此期维持1～2周，传染性最强。②痉挛期：出现阵发性剧咳，由于支气管痉挛可伴有吸气吼声、呕吐、呼吸困难、发绀，这种剧烈的阵咳一天中可出现10～20次。此期有1～6周，并可出现肺炎、中耳炎、出血及中枢神经系统症状。③恢复期：阵咳减轻，完全恢复需数周到数月。由于整个病程较长，故名百日咳。

病后有较持久的免疫力，再次感染少见。由于新生儿对百日咳也易感，提示母体血清IgG抗体未能提供对新生儿的保护，故认为抗百日咳感染的免疫主要是局部粘膜免疫。

诊断与防治　微生物学检查以分离百日咳鲍特菌为主。卡他期取鼻咽拭或咳碟法接种于鲍-金培养基分离培养，出现典型菌落时，经涂片染色镜检、生化反应，或与Ⅰ相免疫血清作凝集试验进行鉴定。

我国选用Ⅰ相百日咳鲍特菌死疫苗与白喉、破伤风的类毒素混合，制成“白百破”（DPT）三联疫苗进行主动免疫，效果较好。治疗首选红霉素，也可选用其他广谱抗生素。

第七节　气单胞菌属

气单胞菌属（*Aeromonas*）是一类具有单端鞭毛有荚膜的革兰阴性杆菌。能利用D-葡萄糖作为惟一或主要碳源和能量来源。有14个基因种。气单胞菌属中嗜水气单胞菌（*A. hydrophila*）、维隆气单胞菌温和生物型（*A. veronii biovar sobrid*）和豚鼠气单胞菌（*A. caviac*）三种为主要致病的菌种。可引起人类胃肠炎、食物中毒、败血症及创伤感染等。

气单胞菌为水中常居菌，进食细菌污染的水和食物等而发生感染。能致腹泻的气单胞菌可产生肠

毒素，此肠毒素不耐热，加热60℃ 30min即可失去活性。肠毒素分为细胞溶解性、细胞毒性和细胞兴奋性三种，前两种能溶解兔红细胞，后者可用中国地鼠卵巢（CHO）细胞毒性试验检出。受毒素作用的CHO细胞由圆变长。用霍乱毒素（CT）的基因探针验证，细胞溶解性和细胞兴奋性肠毒素的基因都与CT有同源性。

根据不同疾病分别采取粪便或肛拭、血液、脓汁、脑脊液、尿液等标本进行微生物学检查。用血平板和选择性培养基同时进行分离培养，对分离菌落作氧化酶、吲哚试验等进行鉴定，并注意与弧菌属和邻单胞菌的鉴别，必要时用分子生物学技术对气单胞菌的基因进行鉴定。

第八节　李斯特菌属

李斯特菌属（*Listeria*）中仅产单核细胞李氏菌（*L. monocytogenes*）对人类致病，引起李斯特菌病，主要表现为脑膜炎和败血症等。近期曾有食用李斯特菌污染的熟肉制品等食物而致肠道感染的报告。

产单核细胞李氏菌的形态为球杆状，常成双排列。革兰阳性。有鞭毛，无芽孢，可产生荚膜。营养要求不高，在室温中动力活泼，但在37℃时动力缓慢，此特征可作为初步判定。能发酵多种糖类、与多种革兰阳性菌有共同抗原，故血清学诊断无意义。

产单核细胞李氏菌广泛分布于自然界，在健康人群中的携带率为1%～5%。在人群中致病多见于新生儿、高龄孕妇和免疫功能低下者。其致病物质为李斯特溶素O（listeriolysin O），与链球菌溶素O和肺炎链球菌溶素（pneumolysin）的基因具有同源性。此溶素需细菌被吞噬后在细胞内生长时释放，这与细菌能在巨噬细胞和上皮细胞内生长以及在细胞间的传播有关。

本菌所致新生儿疾患有早发和晚发两型。早发型为宫内感染，常致婴儿败血症，病死率极高。晚发型在出生后2～3周引起脑膜炎、脑膜脑炎和败血症等。本菌致成人感染主要是引起脑膜炎和败血症等。

微生物学检查可取血液、脑脊液进行检查，也可采集宫颈、阴道、鼻咽部分泌物，新生儿脐带残端、羊水等，引起肠道感染者可取可疑食物、粪便和血液等。根据细菌形态学、培养特性及生化反应作出诊断。治疗可用青霉素、氨苄青霉素、庆大霉素，红霉素等。

（张卓然）

第17章 支 原 体

支原体（mycoplasma）是一类没有细胞壁的原核细胞型微生物。细胞膜含固醇，能通过0.45μm滤菌器；但呈二分裂繁殖，含DNA与RNA。支原体是目前所知能在无生命培养基中繁殖的最小微生物。过去曾称为类胸膜肺炎微生物（pleuropneumonia-like organism，PPLO)，由于它们能形成有分枝的长丝，故称之为支原体。

第一节 概 述

支原体因其没有细胞壁故归属于柔膜体纲（Mollicute）的支原体目（Mycoplasmatales)。下分3个科：①支原体科（Mycoplasmataceae）；②无胆甾原体科（Acholeplasma-taceae)，生长时不需要外源性胆固醇；③螺原体科（Spiroplasmataceae)，生长至一定阶段呈螺形。在支原体科中又分支原体（*Mycoplasma*）和脲原体（*Ureaplama*）2个属。支原体属现知有64个种，而脲原体属 仅2个种。其中对人致病的主要为肺炎支原体（*M. pneumoniae*)、人型支原体（*M. hominis*)、生殖器支原体（*M. genitalium*)、穿透支原体（*M. penetraus*）和 溶脲脲原体（*U. urealyticum*)。

一、生物学性状

形态与结构 支原体是原核细胞生物中最小的，大小一般在0.2～0.3μm，很少超过1.0μm。最外层是细胞膜，由蛋白质与脂质组成的三层结构。内、外二层主要是蛋白质，中间层为脂质。在脂质中固醇约占36%。凡能作用于固醇的物质，如二性霉素B、皂素、毛地黄苷等能引起支原体细胞膜的破坏而死亡。有的支原体在细胞膜外还有一层由多聚糖构成的荚膜，有毒性，是支原体的一种致病因素。

支原体以二分裂繁殖为主，也见出芽、分枝或由球体延伸成长丝，然后分节段成为许多球状或短杆状的颗粒（图17-1)。

有的支原体有一种特殊的顶端结构，能使支原体粘附在宿主上皮细胞表面。这与支原体在粘膜上的定植和致病有关。有些支原体能运动，在支原体内有许多微丝组织成网，和运动有关。在前进方向微丝成束，向前突出。也有认为顶端结构在表面上呈交替粘附和释放，造成支原体在表面滑动。支原体无细胞壁，具有可塑性，能通过0.45μm滤膜。

支原体和其他原核生物一样，基因组是一个环状双链DNA。分子量较小，只有大肠埃希菌的1/5，故其合成和代谢很有限。支原体用普通染色不易着色，用Giemsa法

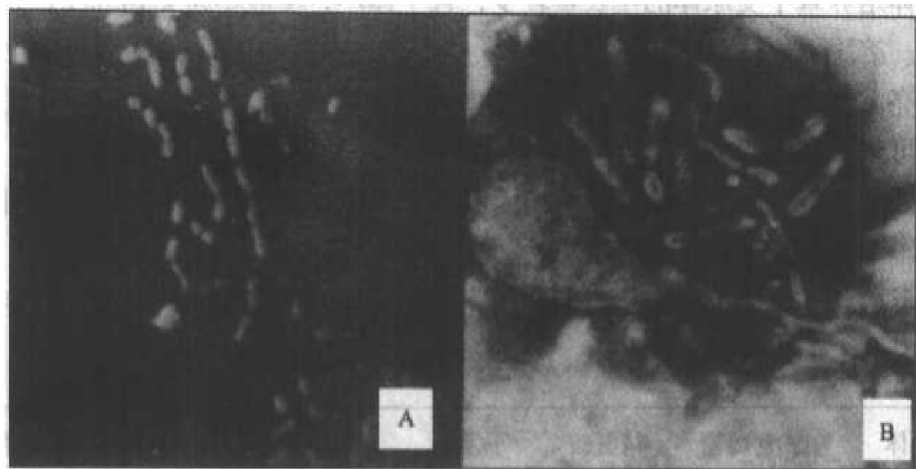


图 17-1　支原体

A. 溶脲脲原体（扫描电镜　×24 000）　　B. 人型支原体（扫描电镜　×10 000）

染色着色很浅。革兰染色阴性。

培养特性　支原体的营养要求比一般细菌高。除无胆甾原体外，培养基中必须加入10%～20%人或动物血清。血清主要用于提供固醇和其他长链脂肪酸，不但是细胞膜合成需要，且具稳定细胞膜的作用。

支原体一般在pH7.8～8.0间生长，低于7.0则死亡。但溶脲脲原体最适的pH为6.0～6.5，因在培养时溶脲脲原体分解尿素产氨，可使培养基pH升高。当培养基指示剂变色即需移种，否则将迅速死亡。支原体一般为兼性厌氧，仅个别菌株专性厌氧。支原体生长缓慢，在含1.4%琼脂的固体培养基上孵育2～3d（有的需要2周）后出现菌落。典型的菌落呈荷包蛋样，核心较厚，向下长入培养基，周边为一层薄薄的透明颗粒区（图17-2)。有的整个菌落呈颗粒状。肺炎支原体的菌落较大，直径100～150μm。溶脲脲原体的菌落最小，仅10～40μm，故曾称“T”株（tiny strain)。支原体的菌落小，宜在低倍镜下观察。

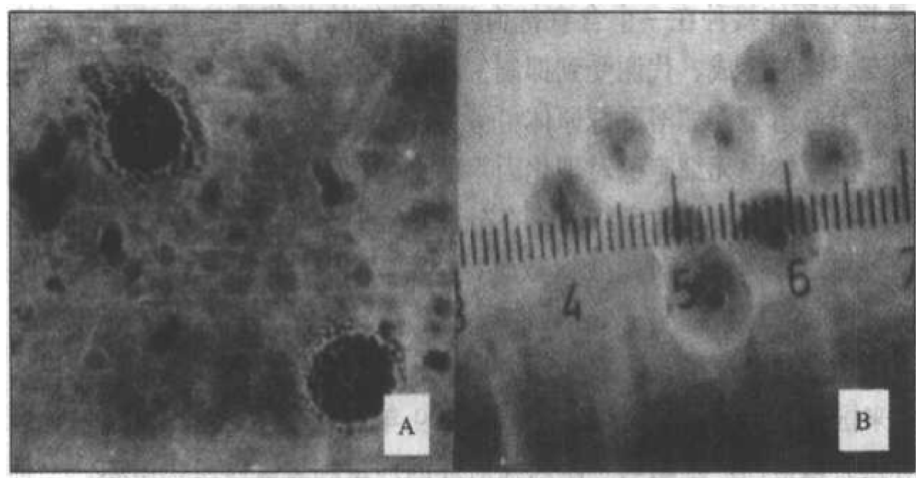


图 17-2　支原体的荷包蛋样菌落

A. 溶脲脲原体（　×800）　　B. 人型支原体（　×400）

在液体培养基中支原体的生长量较少，且个体小，一般不易见到混浊，只有小颗粒沉于管底。溶脲脲原体在生长量最大时每 ml 不超过 $10^6 \sim 10^7$ 个菌落形成单位（CFU），故液体清亮。支原体在固体和液体培养基中生长达高峰后，若继续培养，则很快死亡。在低温下可延长存活时间。

支原体是污染细胞培养的一个重要因素，支原体在细胞培养中不一定都引起细胞病变，但可影响这些细胞用于病毒培养。

生化反应 支原体可根据是否能利用葡萄糖、水解精氨酸和尿素来进行鉴别。

表 17-1 人类主要支原体生物学性状

支原体	葡萄糖	精氨酸	尿素	吸附细胞	致病性
肺炎支原体	+	-	-	红细胞	肺炎、支气管炎
人型支原体	-	+	-	-	泌尿生殖道感染
生殖器支原体	+	-	-	-	泌尿生殖道感染
穿透支原体	+	+	-	红细胞	多见于艾滋病

二、致病性与免疫性

致病性 支原体广泛存在于人、动物体，大多不致病。对人致病的主要有肺炎支原体，可引起原发性非典型肺炎。溶脲脲原体、人型支原体和生殖器支原体在一定条件下也能引起泌尿生殖系统感染和不育症。肺炎支原体、生殖器支原体及穿透支原体以其顶端结构能与宿主细胞上受体结合而粘附于细胞上。除穿透支原体外，一般为表面感染，大多不侵入血液。其致病性可通过不同机制引起细胞损伤：①从细胞膜获得脂质和固醇作为养料；②产生有毒的代谢产物，如神经毒素（外毒素）或产生过氧化氢和超氧离子。溶脲脲原体有尿素酶可水解尿素放出大量氨，对细胞有毒害，且可促使结石形成。溶脲脲原体有粘附精子作用，影响精子动力；且与人精子膜有共同抗原，可因免疫损伤而致不育。穿透支原体能粘附并侵入 $CD4^+$ T 淋巴细胞引起免疫损伤。

免疫性 在小鼠体内腹腔巨噬细胞可以杀灭支原体，IgG1 和 IgG2 抗体有调理作用可加强巨噬细胞对支原体的杀伤作用。粘膜产生的 SIgA 具有保护作用。肺炎支原体可作为超抗原，吸引炎症细胞浸润，同时释放细胞因子。开始为 TNF-α 和 IL-1，随后为 IL-6。这些因子可进一步清除病原体。细胞免疫缺陷的小鼠对支原体易感，可引起弥散型感染。穿透支原体可粘附、人侵人类红细胞、$CD4^+$ T 细胞与单核吞噬细胞，损伤红细胞及破坏细胞免疫，诱发严重感染与加重艾滋病。

三、与细菌 L 型的区别

细菌在一些影响细胞壁合成的抗生素、溶菌酶、抗体和补体的作用下可变成细胞壁缺陷的 L 型。L 型因缺乏细胞壁，其致病性与无细胞壁的支原体和病毒相似，主要引起间质性炎症。动物实验和临床呼吸道 L 型感染 或败血症患者常出现间质性肺炎，与支原体肺炎相似。支原体和 L 型 都能引起泌尿生殖道感染。现已证明溶脲脲原体和细菌 L 型均能吸附精子，与不育有关。细胞培养时常加青霉素抑制杂菌的污染，但支原体仍能生长，并有诱导污染细菌变为 L 型的可能。而支原体与 L 型的生物学特性极为相似，如变为多形性、能通过滤菌器、在固体培养基上菌落呈荷包蛋样或颗粒状，故在进行支原体的分离鉴定时应当注意。两者的主要区别在于 L 型在除去诱导因素后常可回复为原来的细菌型，而支原体则是一种独立的微生物，在遗传上与细菌无关。

表 17-2 支原体与细菌 L 型的区别

支 原 体	L型
1. 在遗传上与细菌无关	1. 与原菌相关，常可以回复
2. 细胞膜含高浓度固醇	2. 细胞膜不含固醇
3. 在一般培养基中稳定	3. 大多需高渗培养
4. 生长慢，菌落小，直径 0.1～0.3mm	4. 菌落稍大，直径 0.5～1.0mm
5. 液体培养混浊度极低	5. 液体培养有一定混浊度，可粘附于管壁或管底

第二节　主要致病性支原体

一、肺炎支原体

从正常人和动物呼吸道粘膜上可分离出多种支原体，其中肯定能引起人类肺炎的只有肺炎支原体一种，引起的肺炎占非细菌性肺炎的1/2左右。支原体肺炎的病理变化以间质性肺炎为主，又称原发性非典型肺炎（primary atypical pneumonia）。肺炎支原体感染后症状较轻，仅有发热、咳嗽等呼吸道症状。近年来经PCR技术证明有些喘息性哮喘、支气管炎与之有关。有时见有呼吸道以外的并发症，如心血管症状、神经症状和皮疹。这可能与免疫复合物的形成和自身抗体的出现有关。支原体肺炎主要经飞沫感染。大多发生于夏末秋初，但一年中任何时间都可发生。发病率以5～15岁的青少年最多。

肺炎支原体的诊断方法靠分离培养和血清学检查。肺炎支原体生长缓慢，早期诊断有赖于寻找抗原。

1. 分离培养　取可疑患者的痰或咽拭接种在含有血清和酵母浸膏的培养基中，用青霉素、醋酸铊抑制杂菌生长。初分离时生长缓慢，需要观察较长时间。长出的菌落没有明显周边。多次传代后生长加快，菌落成典型荷包蛋样。分离的支原体可经形态、血细胞吸附、生化反应以及特异性抗血清作生长抑制试验（GIT）进行鉴定。培养阳性率差，血清学诊断阳性者培养仅64%阳性。

2. 血清学检查　临床上常用冷凝集试验，但仅50%左右患者出现阳性。此反应为非特异性，呼吸道合胞病毒感染、腮腺炎、流感等也可出现冷凝集素效价的升高。补体结合试验和间接血凝等抗体测定方法仅在初次感染时出现阳性，再感染时则不出现，原因是该试验主要检测的是IgM抗体，再感染时IgM不升高。

临床诊断目前倾向于早期寻找抗原。方法有：①应用单克隆抗体通过ELISA试验从患者痰、鼻洗液或支气管洗液中检测肺炎支原体分子量43kDa多肽或190kDa的P1蛋白；②以特异性引物通过PCR技术从患者痰中检测肺炎支原体DNA，并可验证治疗效果。有报道经红霉素、氯霉素或螺旋霉素治疗2～3周后，患者PCR全部转阴。

肺炎支原体灭活或减毒活疫苗的应用效果尚不理想。

二、泌尿生殖道感染支原体

引起泌尿生殖道感染的支原体主要有溶脲脲原体、人型支原体和生殖器支原体。这部分支原体在人体的定植可有二次上升趋势。在分娩时由母体产道感染新生儿，以后迅速减少；但在成长后从性生活开始又渐增多。现已被列为性传播性疾病的病原体。

我国于1986年首次分离出溶脲脲原体，20世纪90年代开始受到广泛重视。在非淋菌性尿道炎（NGU）中，除衣原体外溶脲脲原体是一种很重要的病原体。1998年有报道3年中2197例性病专科初诊为淋病或非淋菌性尿道炎，培养结果淋球菌占21.4%、衣原体35.9%、溶脲脲原体31.4%　同年有报道性病201例中溶脲脲原体占

24.9%，人型支原体占2.0%，溶脲脲原体和衣原体混合感染65.2%。淋病患者中溶脲脲原体检出率比非淋菌性尿道炎的溶脲脲原体高2倍多，可能因淋病奈瑟菌损伤泌尿生殖道粘膜有利于溶脲脲原体的粘附，也是淋病治愈后有些人仍有症状遗留的原因。生殖器支原体与非淋菌性尿道炎有关。有人用PCR技术检测非淋菌性尿道炎，衣原体阳者尿中生殖器支原体28%阳性，而衣原体阴性者尿中生殖器支原体仅7%。正常人泌尿生殖道可有支原体存在，但与患者比均有显著差异。生殖道的支原体感染对自然流产、出生缺陷、死胎和不孕（育）均有关系。如自然流产1～8次的妇女宫颈分泌物或流产组织中溶脲脲原体阳性率68%，其中流产4次以上者高达80%，而对照组织仅10.5%。又如不孕者69例溶脲脲原体检出率55.0%，而对照30例检出率26.6%。

溶脲脲原体可引起不孕，国内资料证明原因可能是多方面的：吸附于精子表面，阻碍精子的运动；产生神经氨酸样物质干扰精子和卵子的结合；与精子有共同抗原成分，对精子 可造成免疫损伤。国内报道2181例不育（孕）男女溶脲脲原体检出率明显高于正常生育对照组；经强力霉素为主的治疗后，83.7%转阴，其中恢复妊娠者占38.7%。

溶脲脲原体的分离可用加尿素和酚红的含血清支原体肉汤。肉汤内可加青霉素抑制杂菌生长。溶脲脲原体具有尿素酶，可分解尿素产氨，使酚红变红，但培养液澄清，表示阳性。在固体培养基上用低倍镜观察，可见有微小的荷包蛋样或颗粒样菌落生长。免疫斑点试验（IDT）是将待检材料滴加于硝酸纤维滤膜上，干燥后加免疫血清。若两者特异性相应就不能被洗去，可用酶标SPA显色，表示阳性反应。此法可用于检测溶脲脲原体抗原或鉴定培养物。

此外尚可应用PCR技术，通过对特异性引物扩增尿素酶基因等来检测溶脲脲原体。

三、穿透支原体

穿透支原体是1990年首次从1例HIV阳性艾滋病患者尿中分离出的一种 新支原体，形态为杆状或长烧瓶状。大小0.2～0.4×0.8～ 2.0μm。一端为尖形结构和肺炎支原体相似，具有粘附、穿入细胞的作用。

穿透支原体生长较慢，培养基中需加血清，菌落呈荷包蛋样，生化反应有别于其他支原体（表17-1）。抗原和 其他支原体不同。对红霉素、四环素、林可霉素敏感。

穿透支原体的致病性与其尖形结构有关，具粘附和穿人作用，引起细胞损伤。感染穿透支原体2h后，即能粘附、穿入人或动物的红细胞、淋巴细胞和单核吞噬细胞。12h后支原体在细胞质中大量复制，导致宿主细胞受损和死亡。有人研究表明穿透支原体对HIV感染者T细胞的作用，可能促进HIV的复制和病程的发展。它对诱导TNF-α的表达可能也是造成细胞损伤的主要因素。有人通过ELISA和免疫印迹进行检测发现，HIV阳性艾滋病患者234例，穿透支原体阳性的检出率为41.5%，而HIV阳性无艾滋病症状者118例，该支原体检出率仅20.3%；其他性传播性疾病患者336人此支原体阳性率仅0.8%，而健康HIV阴性者384人阳性率仅0.3%。因而提出穿透支原体感染 是艾滋病的辅助致病因素。

（林特夫）

第18章　立克次体

立克次体（rickettsia）是一类严格细胞内寄生的原核细胞型微生物，其生物学性状如形态结构、化学组成及代谢方式等方面与细菌类似。立克次体是引起斑疹伤寒、恙虫病、Q热等传染病的病原体，首先由美国青年医师 Howard Taylor Ricketts 发现，为纪念他在研究斑疹伤寒时不幸感染而献身，故以他的名字命名。我国学者魏曦（1903～1989）在立克次体的分离、培养和鉴定方面，也曾作出了重要的贡献。

立克次体的共同特点是：

1. 专性在细胞内寄生，以二分裂方式繁殖。
2. 有 DNA 和 RNA 两类核酸。
3. 有多种形态，主要为球杆状，革兰染色阴性，大小介于细菌和病毒之间。
4. 与节肢动物关系密切，寄生在吸血节肢动物体内，使其成为寄生宿主，或为储存宿主，或同时为传播媒介。
5. 大多是人兽共患病的病原体。
6. 对多种抗生素敏感。

立克次体目中对人类致病的有五个属，包括立克次体属（*Rickettsia*）、柯克斯体属（*Coxiella*）、东方体属（*Orientia*）、埃立克体属（*Ehrlichia*）和巴通体属（*Bartonella*）。其中立克次体属又分成二个生物型：斑疹伤寒群和斑点热群。原有的恙虫病群已另立为东方体属，罗沙利马体也并入到巴通体属。

近年来，随着立克次体分子生物学研究的迅速发展（如 16 S rRNA 序列分析，全 DNA 或基因片段分析等），原有的立克次体分类已不能准确反映立克次体目、科和各种属的面貌，代之而起的是根据基因组对立克次体进行新的分类，其分类位置正处于不断变化中。根据对 16 S rRNA 序列分析结果，立克次体可分为两个亚群：α 亚群包括立克次体、埃立克体、巴通体、埃菲比体（*Afibia*）和考德里体（*Cowdria*）；γ 亚群包括贝纳柯克斯体（*Coxiella burnetii*）和活巴哈体（*Wolbachia persica*）。还有许多新的种属被陆续发现，如日本立克次体（*R. japonica*）、查菲埃立克体（*E. chaffeensis*）等。

立克次体病多数是自然疫源性疾病，呈世界性或地方性流行，人类多因节肢动物吸血时而受到感染。我国发现的立克次体病主要有斑疹伤寒、Q热和恙虫病等（表 18-1）。

表 18-1 立克次体分类及其致病的流行病学特点

属	群	种		所致疾病	媒介昆虫	贮存宿主
立克次体属	斑疹伤寒群	普氏立克次体	(*P. prowazekii*)	流行性斑疹伤寒	人 虱	人
		斑疹伤寒立克次体	(*R. typhi*)	地方性斑疹伤寒	鼠 蚤	鼠
		加拿大立克次体	(*R. canada*)	加拿大斑疹伤寒	蜱	兔
	斑点热群	立氏立克次体	(*R. rickettsii*)	洛矶山斑点热	蜱	狗、野鼠等
		西伯利亚立克次体	(*R. sibirica*)	北亚蜱传斑疹伤寒	蜱	野兽、鸟
		康氏立克次体	(*R. conarii*)	钮扣热	蜱	小野生动物
		澳大利亚立克次体	(*R. australis*)	昆士兰热	蜱	有袋动物、野鼠
		小蛛立克次体	(*R. akari*)	立克次体痘	革螨	家鼠
柯克斯体属		贝纳柯克斯体	(*C. burnetii*)	Q热	蜱	野生小动物、牛、羊
东方体属	恙虫病群	恙虫病立克次体	(*R. tsutsugamushi*)	恙虫病	恙螨	野鼠
埃立克体属	犬埃立克体群	查菲埃立克体	(*E. chaffeensis*)	人单核细胞埃立克体病	蜱	啮齿类
	腺热埃立克体群	腺热埃立克体	(*E. sennetsu*)	腺热埃立克体病	蜱	啮齿类
	嗜吞噬细胞埃立克体群	人粒细胞埃立克体	(HGE)	人粒细胞埃立克体病	蜱	人、马、狗
巴通体属		五日热巴通体	(*B. quintuna*)	战壕热、杆菌性血管瘤	人 虱	人
		汉赛巴通体	(*B. henselae*)	猫抓病、杆菌性血管瘤	—	猫、狗
		杆菌样巴通体	(*B. bacilliformis*)	Oroya 热、秘鲁疣	白蛉	人
		伊丽莎白巴通体	(*B. elizabethae*)	心内膜炎等	不明	不明

第一节　概　　述

一、生物学性状

形态与染色　多形态性，球杆状或杆状，大小为0.3～0.6×0.8～2.0μm（图18-1）。柯克斯体更小，仅0.25×1μm，多形性更明显。革兰染色阴性，但着色不明显，常用Gimenza或Giemsa法染色，前者立克次体被染成红色，染色效果好，后者染成紫色或蓝色。原有的Macchiavello法已被Gimenza法所取代。

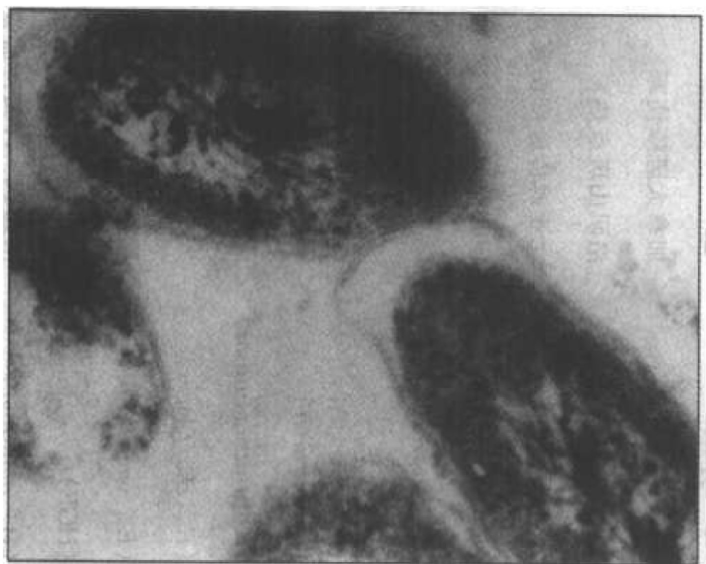


图18-1　贝纳柯克斯体（七医株）（　×160 000　俞树荣提供）

结构与组成　立克次体具有细胞壁和细胞膜，其结构与革兰阴性菌相似。细胞壁最外表是由多糖组成的粘液层，在粘液层和细胞壁之间有脂多糖或多糖组成的微荚膜。上述表层结构与立克次体粘附宿主细胞及抗吞噬有关。除恙虫病立克次体外，细胞壁中有肽聚糖和脂多糖。细胞壁包括外膜、肽聚糖和蛋白脂质多糖，其脂质含量比一般细菌更高。立克次体细胞膜为脂质双分子层，含大量磷脂。细胞质内有核糖体（由30S和50S两个亚单位组成），核质内有双链DNA，但无核仁和核膜。

在感染的宿主细胞内立克次体排列不规则，不同种的立克次体在细胞内分布的位置各异，此特点可供初步识别。例如普氏立克次体在细胞质内分散存在；恙虫病立克次体多在细胞质近核处成堆排列；斑点热立克次体可在细胞质内和核内生长；Q热柯克斯体在细胞质空泡（吞噬溶酶体）内繁殖（图18-2）；而五日热巴通体却粘附于细胞外表面生长繁殖。

培养特性　大多数立克次体只能在活细胞内生长，以二分裂方式繁殖，繁殖一代需时约6～10h。但五日热巴通体可在无细胞培养基中生长。

培养立克次体常用的方法有动物接种、鸡胚接种和细胞培养。动物接种是最常用的

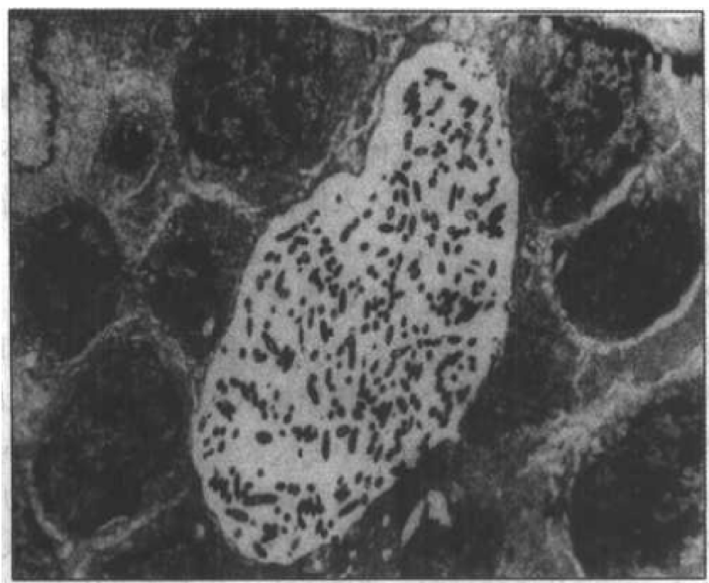


图 18-2 贝纳柯克斯体（七医株）在小鼠脾细胞空泡内繁殖
（×2 000 俞树荣提供）

方法，采用豚鼠、小鼠可对多种病原性立克次体进行繁殖。鸡胚卵黄囊常用于立克次体的传代。目前常用的组织培养系统有鸡胚成纤维细胞，L929 细胞和 Vero 单层细胞，孵育最适温度为 37℃。

抗原结构 立克次体有两类抗原，一为群特异性抗原，与细胞壁表层的脂多糖成分有关，系可溶性抗原，耐热。另一为种特异性抗原，与外膜蛋白有关，不耐热。但恙虫病立克次体的细胞壁结构和抗原成分不同，无粘液层，无微荚膜，无肽聚糖和脂多糖，故恙虫病立克次体现另立为东方体属。

斑疹伤寒等立克次体的脂多糖与变形杆菌某些菌株（如 OX_{19}、OX_2 等）的菌体抗原有共同的抗原成分（表 18-2）。由于变形杆菌抗原易于制备，其凝集反应结果又便于观察，因此临床检验中常用这类变形杆菌代替相应的立克次体抗原进行非特异性凝集反应，这种交叉凝集试验称为外斐反应（Weil-Felix reaction），用于检测人类或动物血清中有无相应抗体，供立克次体病的辅助诊断。

表 18-2 主要立克次体与变形杆菌菌株抗原交叉现象

立克次体	变形杆菌菌株		
	OX_{19}	OX_2	OX_K
普氏立克次体	+ + +	+	-
斑疹伤寒立克次体	+ + +	+	-
恙虫病立克次体	-	-	+ + +
Q 热柯克斯体	-	-	-
五日热巴通体	-	-	-

二、致病性与免疫性

感染途径 人类感染立克次体主要通过节肢动物如人虱、鼠蚤、蜱或螨的叮咬而传播。人虱、鼠蚤在叮咬处排出含有立克次体的粪便而污染伤口侵入人体；以蜱、螨为媒介的传播途径是在叮咬处立克次体直接进入人体；Q热立克次体的传播可经接触、呼吸道或消化道途径感染人类。

致病机制 立克次体的致病物质主要有内毒素和磷脂酶A两类。立克次体内毒素的主要成分为脂多糖，具有肠道杆菌内毒素相似的多种生物学活性，如致热原性，损伤内皮细胞，致微循环障碍和中毒性休克等。磷脂酶A能溶解宿主细胞膜或细胞内吞噬体膜，以利于立克次体穿入宿主细胞并在其中生长繁殖。此外立克次体表面粘液层结构有利于粘附到宿主细胞表面和抗吞噬作用，增强其对易感细胞的侵袭力。

立克次体侵入皮肤后与宿主细胞膜上的特异受体结合，然后被吞入宿主细胞内。不同立克次体在细胞内有不同的增殖过程。普氏立克次体在吞噬体内，依靠磷脂酶A溶解吞噬体膜的甘油磷脂而进入胞质，并进行分裂繁殖，大量积累后导致细胞破裂。立氏立克次体通过丝状伪足（filopodia）离开细胞；恙虫病立克次体通过出芽方式释放；柯克斯体则主要在有吞噬溶酶体性质的膜性液泡中生长，然后使细胞破裂和释放柯克斯体；五日热巴通体在细胞表面生长释放。

立克次体先在局部淋巴组织或小血管内皮细胞中增殖，产生初次立克次体血症。再经血流扩散至全身器官的小血管内皮细胞中繁殖后，大量立克次体释放入血导致第二次立克次体血症。由立克次体产生的内毒素等毒性物质也随血流波及全身，引起毒血症。

立克次体损伤血管内皮细胞，引起细胞肿胀、组织坏死和血管通透性增高，导致血浆渗出，血容量降低以及凝血机制障碍、DIC等。在体内细胞因子（如IFN-γ等）和CTL的作用下，立克次体感染的宿主细胞被溶解。不同种类的立克次体的致病特点有所不同，但其基本病理改变部位在血管，主要病变是血管内皮细胞大量增生，血栓形成以及血管壁有节段性或圆形坏死等。此外还伴有全身实质性脏器的血管周围广泛性病变，常见于皮肤、心脏、肺和脑。

感染立克次体后，体内可形成抗原抗体免疫复合物，进而加重病理变化及临床症状。严重者可因心、肾衰竭而死亡。

所致疾病 由立克次体引起的疾病统称为立克次体病。不同的立克次体所引起的疾病各不相同，主要包括斑疹伤寒、恙虫病、Q热、埃立克体病、巴通体病以及猫抓病等(表18-1)。

免疫性 立克次体是严格细胞内寄生的病原体，故体内抗感染免疫以细胞免疫为主，体液免疫为辅。机体感染后产生的群和种特异性抗体，有促进巨噬细胞的吞噬及中和毒性物质的作用。由细胞免疫产生的细胞因子，有激活、增强巨噬细胞杀灭细胞内立克次体的作用。病后可获得较强的免疫力。

三、诊断与防治

微生物学检查法 因立克次体特别容易引起实验室感染，必须严格遵守实验室操作

规程，注意防止感染事故的发生。

1. 标本的采集　主要采集病人的血液以供病原体分离或作免疫学试验。流行病学调查时，尚需采集野生小动物和家畜的器官，以及节肢动物等。

一般在发病初期或急性期和应用抗生素前采血，否则很难获得阳性分离结果。血清学试验需采集急性期与恢复期双份血清，以观察抗体滴度是否增长。

2. 分离培养　由于检材中立克次体含量较低，直接镜检意义不大。可将检材(血液、血块或其他组织悬液)接种至易感动物腹腔。除恙虫病立克次体和小株立克次体接种小鼠外，其他均用雄性豚鼠分离。若接种后豚鼠体温＞40℃，同时有阴囊红肿，表示有立克次体感染，应进一步将分离出的毒株适应于鸡胚或细胞培养，用免疫荧光试验加以鉴定。

感染组织和皮肤病变活检标本可用免疫荧光法、免疫蛋白印迹法、蛋白质指纹图谱分析法等鉴定。

3. 血清学试验　非特异性外斐反应是用普通变形杆菌的菌株抗原代替立克次体抗原检测患者血清中有无立克次体抗体的凝集试验。如滴度≥1∶160或随病程延长而血清滴度增长≥4倍，为阳性反应。流行性和地方性斑疹伤寒、恙虫病患者可出现阳性反应。由于该试验为非特异性，必须同时结合流行病学和临床症状才能作出正确诊断。

此外，还可以采用ELISA法或免疫荧光法检测血清中特异抗体。

防治原则　预防立克次体病的重点是控制和消灭其中间宿主以及储存宿主，如灭鼠、杀灭媒介节肢动物，加强个人自身防护，能有效的防止斑疹伤寒、恙虫热、斑点热的流行。

特异性预防方面，目前多采用经γ射线辐射的全细胞灭活疫苗，如预防斑疹伤寒的鼠肺疫苗、鸡胚疫苗等。立克次体重组的变异性外膜蛋白（variable outer-membrane protein，VOMP）是候选的亚单位疫苗，正在预试阶段。

氯霉素、四环素类抗生素（包括强力霉素）对各种立克次体均有效，可使病程缩短，病死率明显下降。但病原体彻底清除或病人的健康恢复主要依赖于人体的免疫功能，特别是细胞免疫功能状况。应注意磺胺类药物不能抑制立克次体生长，反而会促进其繁殖作用。

第二节　主要致病性立克次体

普氏立克次体　普氏立克次体是流行性斑疹伤寒（又称虱传斑疹伤寒）的病原体。病人是惟一传染源，体虱是主要传播媒介，传播方式为虱-人-虱（图18-3）。虱叮咬病人后，立克次体进入虱肠管上皮细胞内繁殖。当受染虱再去叮咬健康人时，立克次体随粪便排泄于皮肤上，进而可从搔抓的皮肤破损处侵入体内。此外，立克次体在干虱粪中能保持感染性达二个月左右，可经呼吸道或眼结膜使人感染。该病的流行多与生活条件的拥挤、不卫生有关，因此多发生于战争、

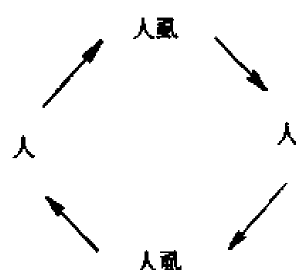


图18-3　流行性斑疹伤寒传播方式

饥荒及自然灾害时期。

人感染立克次体后，经两周左右的潜伏期骤然发病，主要症状为高热、头痛、皮疹，有的伴有神经系统、心血管系统或其它脏器损害。病后免疫力持久，与斑疹伤寒立克次体感染有交叉免疫。

斑疹伤寒立克次体 斑疹伤寒立克次体是地方性斑疹伤寒（又称鼠型斑疹伤寒）的病原体。鼠是主要储存宿主，传播媒介主要是鼠蚤或鼠虱，感染的自然周期是鼠-蚤-鼠（图 18-4）。鼠蚤叮吮人血时，可将立克次体传染给人。带有立克次体的干燥蚤粪有可能经口、鼻、眼结膜进入人体而致病。该病的临床症状与流行性斑疹伤寒相似，但发病缓慢、病情较轻，很少累及中枢神经系统、心肌等。

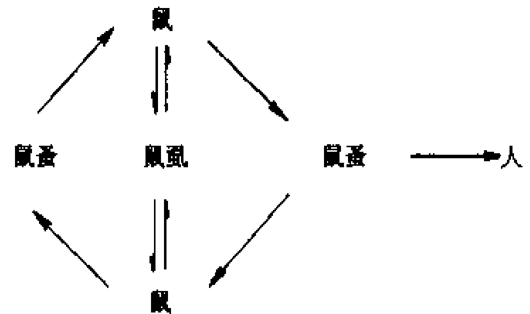


图 18-4 地方性斑疹伤寒传播方式

恙虫病立克次体 恙虫病立克次体是恙虫病的病原体。主要流行于东南亚、西南太平洋岛屿，因此又称东方立克次体（*R. orientalis*）。国内主要见于东南和西南地区。

恙虫病是一种自然疫源性疾病，主要流行于啮齿动物。野鼠和家鼠感染后多无症状，但体内长期保留病原体，故为主要传染源。此外，兔类、鸟类等也能感染或携带恙螨而成为传染源。

恙螨是传播媒介，又是储存宿主（图 18-5）。恙虫病立克次体寄居在恙螨体内，可经卵传代。

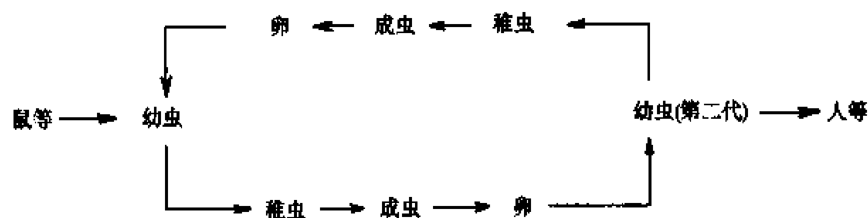


图 18-5 恙虫病传播方式

立克次体借助恙螨的叮咬而在鼠间传播。恙螨幼虫叮咬人时，立克次体侵入人体，叮咬处先出现红色丘疹，成水疱后破裂，溃疡处形成黑色焦痂，是恙虫病特征之一。病原体在局部繁殖后经淋巴系统入血循环，产生立克次体血症。病原体释出的毒素，可引起发热、皮疹，全身淋巴结肿大及各内脏器官的病变。

病后有较持久的免疫力。

贝纳柯克斯体 贝纳柯克斯体又称 Q 热柯克斯体，是引起 Q 热的病原体（query fever，疑问热，指最初不明病因的发热）。其基因组分子量为 1.04×10^9，含 1.6×10^6bp，约为大肠埃希菌的 1/3。近年来已分离其基因达 13 个之多，分别与编码立克次体代谢酶有关（如 pyrB、gltA、sdhCDAB 基因），或与编码表面抗原有关（rpA、tpB、comI 基因），或与编码毒力因子有关（sod、mucz、cbbE、dnaJ、qrsA 基因）。此外，还

发现贝纳柯克斯体带有 4 种不同的质粒，分别为 36kb QpHI、39kb QpRS、33.5kb QpDV 和 51kb QpDG，其功能尚未阐明。

贝纳柯克斯体存在着抗原相的变异现象，此因适应不同宿主而表现出两相抗原性，其中主要是 LPS 变异。从人、动物或蜱体内新分离的立克次体为 I 相，含完整的抗原组份，具光滑 Lps（LPSI），毒力强。若经人工传代后成为含粗糙 Lps（LPSII）的 II 相弱毒株。

Q 热的传染源主要是受染的牛、羊等家畜，在动物间的传播是以蜱为传播媒介并可经卵传代。动物感染后多无症状，但乳汁、尿、粪中可长期带有病原体。人类经接触或呼吸道等途径受染。

Q 热的临床症状主要有发热、头痛、腰痛等，部分重症病例可并发心内膜炎。

抵抗力大于一般无芽胞细菌。耐热，牛乳需煮沸 10min 以上才能杀死。耐干燥，在蜱干粪中可存活一年以上。1%甲醛需 48h 才能将其灭活。

病后有一定免疫力，以细胞免疫为主。

预防应着重防止家畜的感染，对乳制品严格消毒。对易感人群可接种用 I 相菌株制成的灭活疫苗或减毒活疫苗。对牛、羊也可采用疫苗接种。

汉赛巴通体 汉赛巴通体是猫抓病（cat scratch disease，CSD）的主要病原体。革兰阴性小杆菌，大小为 $1\times0.5\mu m$ 左右。由临床新鲜标本中分离的汉赛巴通体有菌毛，而经实验室传代后可失去菌毛。其生化反应不活泼，不发酵各种糖类。传染源主要为猫，尤其是幼猫。90%以上的患者与猫或狗有接触史，75%的病例有被猫或狗抓伤、咬伤的历史，猫口腔、咽部的病原体经伤口或通过其污染的毛皮、脚爪侵入而传播，多发于学龄前儿童及青少年。

由于近年来国内外养宠物者增多，因此猫抓病病例增加。病原体从抓伤处进入体内，局部皮肤出现丘疹或脓疱，继而发展为以局部引流淋巴结肿大为特征的临床综合征，出现发热、厌食、肌痛、脾肿大等。常见的临床并发症是结膜炎伴耳前淋巴结肿大（Parinaud 眼淋巴腺综合征），系猫抓病的重要特征之一。

汉赛巴通体和五日热巴通体还可引起杆菌性血管瘤-杆菌性紫癜（bacillary angiomatosis-bacillary peliosis，BAP）。BAP 多发生于免疫功能受到严重损害者，如 HIV 感染者、肿瘤或器官移植的病人，其主要表现为皮肤损害和内脏器官小血管增生。杆菌性血管瘤可发生在体内任何实质性器官，而杆菌性紫癜则多见于肝脏、脾脏。

实验室检查可取病灶组织（淋巴结、皮肤、肉芽肿等）作超薄切片，进行组织病理学检查。此外，还可用羊血琼脂或巧克力（色）琼脂等培养基，或采用原代细胞或传代细胞，对新鲜组织标本培养和鉴定。

预防方面尚无特异性措施。与猫、狗接触时避免被抓伤或咬伤，若被抓、咬伤后，可用碘酊局部涂抹。对感染猫进行杀灭。

可采用环丙沙星、红霉素、利福平等治疗感染猫或病人。

（贾文祥）

第19章 衣 原 体

衣原体（chlamydia）是一类严格在真核细胞内寄生，有独特发育周期，能通过细菌滤器的原核细胞型微生物。过去曾被认为是病毒，现归属于广义细菌中的一类微生物。

衣原体的共同特征是：①革兰阴性，圆形或椭圆形体；②具有细胞壁，其组成与革兰阴性菌相似；③有独特的发育周期，行二分裂方式繁殖；④含有 DNA 和 RAN 两类核酸；⑤有核糖体和较复杂的酶类，能进行多种代谢。但缺乏供代谢所需的能量来源，必须利用宿主细胞的三磷酸盐和中间代谢产物作为能量来源；⑥对多种抗生素敏感。

衣原体广泛寄生于人类、哺乳动物及禽类，仅少数能致病，能引起人类疾病的衣原体主要有沙眼衣原体和肺炎衣原体。目前在发达国家中，由衣原体感染所致的性传播疾病增加很快，生殖道感染的发病率已超过淋病奈瑟菌感染，成为最常见的性传播疾病。

根据衣原体的抗原结构和 DNA 同源性的特点，将衣原体属（*Chlamydiae*）分为四个种，包括沙眼衣原体（*Chlamydia trachomatis*）、肺炎衣原体（*Chlamydia pneumoniae*）、鹦鹉热衣原体（*Chlamydia psittaci*）和兽类衣原体（*Chlamydia pecorum*），彼此间的基本性状有差异（表 19-1）。

表 19-1 四种衣原体的性状比较

性状		沙眼衣原体	肺炎衣原体	鹦鹉热衣原体	兽类衣原体
自然宿主		人、小鼠	人	鸟类、低等哺乳类	牛、羊
主要人类疾病		沙眼	肺炎	肺炎	呼吸道感染
		性传播疾病	呼吸道感染	呼吸道感染	
		幼儿肺炎			
原体形态		圆、椭圆	梨形	圆、椭圆	圆
包涵体糖原		+	−	−	−
血清型		18	1（TWAR 株）	不明	3
DNA 同源性	与相同衣原体种	>90%	>90%	14%～95%	88%～100%
	与不同衣原体种	<10%	<10%	<10%	
对磺胺的敏感性		敏感	不敏感	不敏感	不敏感

注：TWAR：Taiwan，acute respiratory

第一节　概　　述

一、生物学性状

发育周期与形态染色　衣原体在宿主细胞内生长繁殖，具有特殊的发育周期。可观察到两种不同的颗粒结构：一种是小而致密，称为原体（elementary body，EB）；另一种是大而疏松，称为始体（initial body），也称为网状体（reticulate body，RB）。

原体呈球形、椭圆形或梨形，直径0.2～0.4μm。普通光学显微镜下勉强可见；电镜下中央有致密的类核结构，有胞壁，是发育成熟的衣原体。Giemsa染色呈紫色，Macchiavello染色呈红色。原体具有高度感染性，在宿主细胞外较为稳定，无繁殖能力。当进入宿主易感细胞后，细胞膜围于原体外形成空泡。原体在空泡中逐渐发育、增大成为始体。

始体呈圆形或椭圆形，体大，直径0.5～1μm，电子致密度较低，无胞壁，代谢活泼，以二分裂方式繁殖，在空泡内发育成许多子代原体。最后，成熟的子代原体从破坏的感染细胞中释出；再感染新的易感细胞，开始新的发育周期。每个发育周期约为48～72h（图19-1）。始体是衣原体发育周期中的繁殖型，不具感染性。Macchiavello染色呈蓝色（表19-2）。

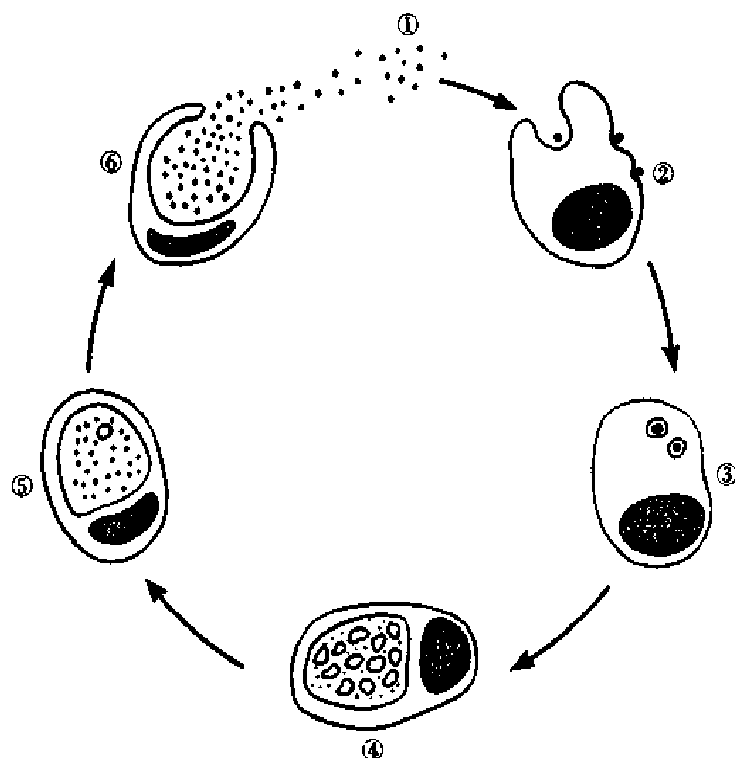


图19-1　衣原体的发育周期

①EB　②0h，吸附的EB被吞入细胞质
③8h，EB发育成RB　④24h，RB增殖
⑤30h，RB分化成EB，包涵体形成　⑥48h,，细胞破裂，释放EB

表 19-2 原体和始体的性状比较

性　状	原体	始体
大小（直径，μm）	0.2～0.4	0.5～1
细胞壁	+	-
代谢活性	-	++
胞外稳定性	+	-
感染性	+	-
繁殖能力	-	+
毒性	+	-

包涵体系指在易感细胞内含繁殖的始体和子代原体的空泡。由于发育时期不同，包涵体的形态和大小都有差别。成熟的包涵体含大量的原体。

培养特性　衣原体营专性细胞内寄生。绝大多数能在6～8d龄鸡胚或鸭胚卵黄囊中生长繁殖，并可在卵黄囊膜内找到包涵体、原体和始体颗粒。某些衣原体可使小鼠感染，如鹦鹉热衣原体接种小鼠腹腔；性病淋巴肉芽肿衣原体接种小鼠脑内。

衣原体可在某些原代或传代细胞株中生长，如HeLa-299、BHK-21、McCoy或HL细胞株，比鸡胚培养更敏感。为提高分离培养阳性率，可将接种标本的细胞离心，促进衣原体进入细胞；或先用X线照射细胞使处于非分裂状态，以提高其对衣原体的易感性。

抗原结构　根据细胞壁的不同成分，可分为属、种、型特异抗原。

1. 属特异抗原　位于胞壁，为脂多糖，类似革兰阴性菌的脂蛋白-脂多糖复合物。用补体结合试验检测。

2. 种特异抗原　大多数衣原体的种特异抗原位于主要外膜蛋白（major outer membrane protein，MOMP）上，用补体结合试验和中和试验检测，藉此可鉴别不同种衣原体。

3. 型特异抗原　根据主要外膜蛋白抗原可将每种衣原体分为不同血清型或生物型（biovar）。型特异性差别的分子基础是由氨基酸可变区的顺序变化决定的。常用检测的方法是单克隆抗体微量免疫荧光试验。

抵抗力　衣原体对热和常用消毒剂敏感，在60℃仅能存活5～10min，在-70℃可保存数年，冷冻干燥可保存30年以上仍有活性。用75%乙醇半分钟或2%来苏液5min均可杀死衣原体。红霉素、强力霉素和四环素等有抑制衣原体繁殖的作用。

二、致病性与免疫性

致病机制　衣原体通过创面侵入机体后，原体吸附于易感的柱状或杯状粘膜上皮细胞并在其中繁殖，也能进入单核吞噬细胞繁殖。细胞质围绕原体内陷形成空泡，称吞噬体。原体在空泡内发育成网状体，完成其繁殖过程。细胞内溶酶体如能与吞噬体融合，溶酶体内的水解酶则可将衣原体杀灭。衣原体能产生类似革兰阴性细菌的内毒素毒性物质，抑制宿主细胞代谢，直接破坏宿主细胞。此外，衣原体主要外膜蛋白（MOMP）能阻止吞噬体和溶酶体的融合，从而有利于衣原体在吞噬体内繁殖并破坏宿主细胞。MOMP的表位还能突变，在体内可以逃避特异性抗体的中和作用而继续感染细胞。在体内抗衣原体的免疫应答过程中，一方面疾病得以缓解，另方面由T细胞与感染细胞

的相互作用也会导致免疫病理损伤，产生第 IV 型超敏反应。已有的试验证明经小鼠静脉注入衣原体后，小鼠可出现肺、肠出血和肝坏死，受感染的机体有炎症反应和迟发型超敏反应。沙眼衣原体或 MOMP 成分，可促进单核细胞产生 IL-1 等细胞因子，而 IL-1 是炎症和瘢痕形成的重要因素，沙眼衣原体感染易生成瘢痕可能与此有关。

不同的衣原体因 MOMP 等不同，其致病性不同，有些只引起人类疾患，例如沙眼衣原体中的沙眼亚种、性病淋巴肉芽肿亚种以及肺炎衣原体。有些是人兽共患病原体，例如鹦鹉热衣原体中部分菌株。有些只引起动物疾病，例如沙眼衣原体中的鼠亚种、鹦鹉热衣原体中的大多数菌株和兽类衣原体。人类感染衣原体后出现的衣原体病主要有沙眼、包涵体结膜炎、泌尿生殖道感染（非淋菌性尿道炎、宫颈炎等）、性病淋巴肉芽肿以及肺炎等。

免疫性　机体感染衣原体后，体内能产生型特异性的细胞免疫和体液免疫。由 MOMP 活化的 T 细胞可分泌细胞因子，抑制衣原体包涵体的发展；特异性中和抗体可以抑制衣原体吸附到宿主细胞，参与抗衣原体感染的中和作用。但这种免疫力不强，因此易造成持续感染和反复感染。此外，机体也可能出现由 IV 型超敏反应造成的免疫病理损伤现象，如性病淋巴肉芽肿等。

第二节　主要致病性衣原体

一、沙眼衣原体

沙眼衣原体除少数菌株来自小鼠外，人类是其主要自然宿主。根据致病力和某些生物学特性的差别，沙眼衣原体可分为三个亚种，即沙眼生物亚种（*Biovar trachoma*）、性病淋巴肉芽肿亚种（*Biovar lymphogranuloma venereum*，LGV）和鼠亚种（*Biovar mouse*）（表 19-3）。

表 19-3　沙眼衣原体三个亚种的比较

性状	沙眼亚种	LGV 亚种	鼠亚种
自然宿主：			
人	+	+	+
小鼠	-	-	+
易感部位：			
鳞状上皮细胞	+	-	-
淋巴组织	-	+	-
单核吞噬细胞	-	+	-
细胞培养：			
McCoy 细胞培养的阳性率	70%～80%	<50%	不明
血清型别数目（个）	15	3	不明
实验动物：			
小鼠：脑内接种致死	-	+	-
灵长类：滤泡性结膜炎	+	-	-
与沙眼亚种 DNA 同源性	100%	100%	30%～60%

（一）沙眼亚种

生物学特性 圆形或椭圆形，不同发育阶段，大小和染色反应不一。原体直径约0.3μm，中央有致密核质，Giemsa染色呈紫红色。网状体直径0.5～1μm，核质分散，Giemsa染色为深蓝或暗紫色。原体能合成糖原，掺入沙眼包涵体的基质组成，故被碘溶液染成棕褐色。

我国学者汤飞凡（1897～1958）在1955年采用鸡胚卵黄囊接种法在世界上首次分离培养出沙眼衣原体，他是世界上发现重要病原体的第一个中国人，开创了沙眼衣原体的实验研究工作。现可采用多种传代细胞对沙眼衣原体进行培养。

采用微量免疫荧光法（MIF）可将沙眼衣原体至少分为18个血清型，其中沙眼生物变种包括A、B、Ba、C、D、Da、E、F、G、H、I、Ia、J和K共14个血清型。LGV生物变种包括L_1、L_2、L_{2a}和L_3 4个血清型。此外，目前还采用编码MOMP的结构基因寡核苷酸测序、限切酶片段长度多态性（RFLP）等方法分型。

致病性与免疫性 沙眼亚种主要寄生在人类，无动物储存宿主。主要引起以下疾病：

1. 沙眼 由沙眼亚种A、B、Ba和C血清型引起。主要通过眼—眼或眼—手—眼的途径进行直接或间接接触传播。沙眼衣原体感染眼结膜上皮细胞后，在其中增殖并在细胞质内形成包涵体，引起局部炎症。沙眼的早期症状是流泪、有粘液脓性分泌物、结膜充血及滤泡增生。后期出现结膜瘢痕、眼睑内翻、倒睫以及角膜血管翳引起的角膜损害，影响视力或致盲，是目前世界上致盲的第一位病因。

2. 包涵体结膜炎 由沙眼亚种B、Ba、D、Da、E、F、G、H、I、Ia、J、及K血清型引起。包括婴儿及成人两类。前者系婴儿通过产道时感染，引起滤泡性结膜炎，其分泌物内含大量衣原体。病变类似沙眼，但不出现角膜血管翳，不形成结膜瘢痕，一般经数周或数月痊愈。

3. 泌道生殖道感染 经性接触传播引起的非淋菌性泌尿生殖道感染，其中有50%～60%系沙眼衣原体所致，涉及的血清型与包涵体结膜炎的相同。衣原体感染是男性尿道炎最常见的病因，未经治疗者多数转变成慢性，周期性加重，或可合并附睾炎、前列腺炎等。在女性可引起尿道炎、宫颈炎、输卵管炎、盆腔炎等。衣原体常与淋病奈瑟菌混合感染、淋病奈瑟菌对衣原体繁殖起着激活和促进作用。因此在合并淋病奈瑟菌感染者，沙眼衣原体分离阳性率增高。

机体感染沙眼衣原体后，血清中有特异性抗体，但抗体持续时间短暂。沙眼病愈合后机体免疫力不强，易再受感染。

微生物学检查法 衣原体标本的正确采集和运送方法十分重要。对急性期沙眼或包涵体结膜炎患者，以临床诊断为主。实验室检查，可取眼结膜刮片或眼穹窿部及眼结膜分泌物作涂片。对泌尿生殖道感染者，由于临床症状不一定典型，因而实验室检查很重要，可采用泌尿生殖道拭子或宫颈刮片，少数取精液或其它病灶部分活检标本，也可以用初段尿离心后涂片。若要作衣原体培养，应注意标本的保存并及时接种到培养细胞中。采集的标本或菌株可加入蔗糖-磷酸盐-谷氨酸盐（SPG）培养基，放－70℃冰箱或

液氮保存。衣原体标本的运送常用含抗生素的蔗糖磷酸盐运送培养基。若标本在 2h 内接种，检出阳性率最高；若在 24h 内接种，标本可暂时保存在 4℃备用。

1．直接涂片镜检　采用 Giemsa、碘液或荧光抗体染色镜检，检查上皮细胞内有无包涵体（图 19-2）。

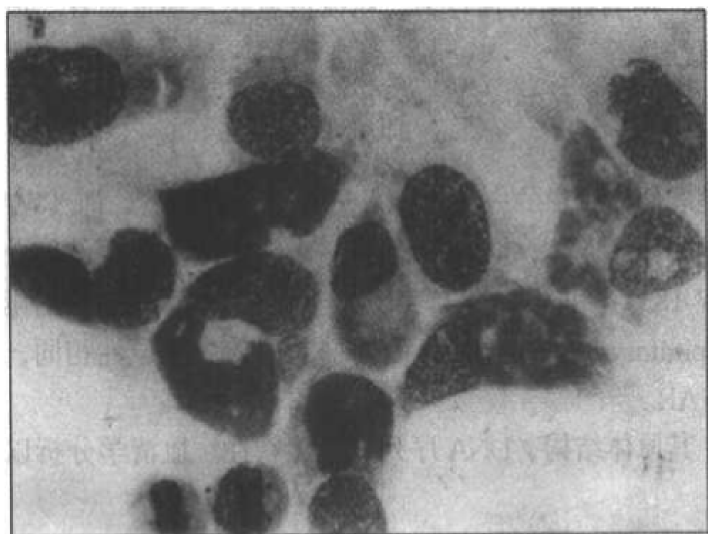


图 19-2　沙眼衣原体包涵体

结膜涂片　×650

2．分离培养　采用感染组织的刮取物或分泌物，接种鸡胚卵黄囊或传代细胞。衣原体培养较常用的是经放线菌酮处理的单层 McCoy 细胞，或 HeLa-229 细胞及 BHK21 细胞，35℃培养 48～72h。用直接免疫荧光法或酶联免疫法可以检测标本中的衣原体。

3．核酸检测　采用多聚酶链反应（PCR）、连接酶链反应（LCR）等核酸扩增技术检测沙眼衣原体，已得到较广泛应用。其中 LCR 采用 4 种寡核苷酸探针（即两对引物），可得到高度的敏感性和特异性诊断。

（二）性病淋巴肉芽肿亚种

生物学特性　LGV 亚种的大小、染色和培养特性均类似沙眼亚种。

引起本病的四个血清型（L_1、L_2、L_{2a}及 L_3）与沙眼亚种 E 型和 C 型有交叉抗原存在。

致病性与免疫性　人是性病淋巴肉芽肿衣原体的自然宿主，无动物储存宿主。主要通过两性接触在人类传播。主要侵犯淋巴组织，在男性侵犯腹股沟淋巴结，引起化脓性淋巴结炎和慢性淋巴肉芽肿，常形成瘘管。在女性侵犯会阴、肛门和直肠，可形成肠皮肤瘘管；也可引起会阴-肛门-直肠狭窄和梗阻。LGV 也能引起伴有耳前、颌下及颈部淋巴结肿大的结膜炎。

将 LGV 衣原体接种小鼠或猴脑内，可引起脑膜脑炎，但对鸟类不能引起感染。

微生物学检查法　采集淋巴结脓肿、脓液、生殖器溃疡或直肠组织标本待检。LGV 标本的保存、运送以及检测方法，与沙眼亚种相同。LGV 衣原体容易在传代细胞培养，一般不需要特殊的技术处理。检测血清中抗衣原体抗体的血清学诊断试验，在常

规临床诊断中价值不大，此因性传播的高危人群多有慢性感染，不易获得衣原体感染急性期和恢复期双份血清进行抗体水平的比较。

防治原则 沙眼的预防重在注意个人卫生，不使用公共毛巾、浴巾和脸盆，避免直接或间接的接触传染，目前尚无特异的预防方法。泌尿生殖道衣原体感染的预防应广泛开展性病知识宣传，提倡健康的性行为，积极治愈病人和带菌者。治疗药物可选用磺胺、红霉素、诺氟沙星等。

二、肺炎衣原体

肺炎衣原体是衣原体属中的一个新种。只有一个血清型，即 TWAR 组衣原体。这是根据最初分离的两株病原体，即 1965 年自一名台湾小学生眼结膜分离的一株衣原体（Taiwan-183，TW-183），和 1983 年自美国大学生急性呼吸道感染者咽部分离的另一株衣原体（acute respiratory-39，AR-39），因两株衣原体的抗原性相同，以这两株的字头合并后，称作 TWAR。

生物学特性 其原体结构、DNA 序列、培养特性、血清学分析以及致病性与其他衣原体均有不同：

1. TWAR 的原体平均直径为 0.38μm，在电镜下呈梨形，并有清晰的周浆间隙，原体中无质粒 DNA。

2. TWAR 株与鹦鹉热衣原体、沙眼衣原体的 DNA 同源性＜10%，而不同来源的 TWAR 株都具有 94%以上的 DNA 同源性，其限制性内切酶的图谱相同。

3. TWAR 只有一个血清型，外膜蛋白顺序分析完全相同，98kDa 蛋白为特异性抗原。其单克隆抗体与沙眼衣原体及鹦鹉热衣原体无交叉反应。

4. TWAR 株用 HEp-2 和 HL 细胞系较易分离和传代，但在第一代细胞内很少能形成包涵体。

致病性与免疫性 肺炎衣原体寄生于人类，无动物储存宿主。TWAR 感染系人与人之间经飞沫或呼吸道分泌物传播，亦可在家庭或医院等集体场所相互传染。其扩散较为缓慢，潜伏期平均 30d 左右。TWAR 感染具散发和流行交替出现的特点。在感染人群中流行可持续 6 个月左右。

TWAR 是呼吸道疾病重要的病原体，主要引起青少年急性呼吸道感染，可引起肺炎、支气管炎、咽炎和鼻窦炎等。起病缓慢，临床常表现有咽痛、声音嘶哑等症状，还可引起心包炎、心肌炎和心内膜炎。近年来还发现 TWAR 与冠状动脉硬化和心脏病的发生有关。采用免疫组化、分子生物学和电镜形态的研究结果，证实在冠状动脉粥样硬化病灶中存在肺炎支原体。不仅有肺炎支原体类似的梨形结构，而且其病理切片用抗肺炎衣原体特异性单克隆抗体处理后呈阳性。有资料表明慢性肺炎衣原体感染及其形成的免疫复合物，可能是冠心病发病的一个重要因素，但还需要进一步研究。

微生物学检查法

1. 病原学检查 用 HL 和 HEp-2 细胞培养肺炎衣原体较易生长，用 McCoy 细胞及其它传代细胞分离培养肺炎衣原体较困难，痰标本对细胞有毒性作用，通常取咽拭标本

或支气管肺泡灌洗液较好。标本最好用膜式滤菌器除去杂菌，不加抗生素。痰液和咽拭均先涂片，再以免疫酶标法或直接免疫荧光法检测肺炎衣原体的存在。

2. 抗体测定　目前诊断 TWAR 感染较敏感的方法，是用微量免疫荧光试验检测血清中的抗体。分别检测 TWAR 的特异性 IgM 和 IgG 抗体，有助于区别近期感染和既往感染，也有利于区别原发感染和再感染；凡双份血清抗体滴度增高 4 倍或以上；或单份血清 IgM 抗体滴度≥1:16，或 IgG 抗体滴度≥1:512，可确定为急性感染。

3. 特异性核酸检测　采用限切酶 Pst I 对 TWAR DNA 酶切后，可以获得一 474bp 的核酸片段，这是其它两种衣原体没有的 DNA 片段。采用扩增 DNA 的 PCR 技术，可以进行 TWAR 特异性核酸片段的检测。

（贾文祥）

第20章 螺 旋 体

螺旋体（spirochete）是一类细长、柔软、螺旋状、运动活泼的原核细胞型微生物。其基本结构与细菌相似，例如有细胞壁、原始核质，以二分裂方式繁殖和对抗生素等药物敏感等。因此，分类学上划归广义的细菌范畴。

螺旋体在自然界和动物体内广泛存在，种类很多。根据螺旋体的大小，螺旋数目、规则程度及螺旋间距等，螺旋体目可分为两个科。螺旋体科（Spirochaetaceae）又分5个属，而钩端螺旋体科（Leptospiraceae）分2个属。7个菌属中，密螺旋体、疏螺旋体和钩端螺旋体3个菌属能引起人类的有关疾病（表20-1）。

表20-1 螺旋体的科和属

螺旋体	引起人类疾病	病原体
螺旋体科		
脊膜螺旋体属（*Cristispira*）	不	-
蛇形螺旋体属（*Serpulina*）	不	-
螺旋体属（*Spirochaeta*）	不	-
密螺旋体属（*Treponema*）	梅毒	苍白密螺旋体苍白亚种
	地方性梅毒	苍白密螺旋体地方亚种
	雅司	苍白密螺旋体极细亚种
	品他病	品他密螺旋体
疏螺旋体属（*Borrelia*）	流行性回归热	回归热疏螺旋体
	地方性回归热	许多种
	莱姆病	伯氏疏螺旋体，伽氏疏螺旋体，埃氏疏螺旋体
钩端螺旋体科		
细丝体属（*Leptonema*）	不	-
钩端螺旋体属（*Leptospira*）	钩端螺旋体病	问号状钩端螺旋体

第一节 密螺旋体属

密螺旋体的螺旋细密、规则、两端尖，数目较多；包括致病性和非致病性两大类。

对人致病的密螺旋体有苍白密螺旋体（*T. pallidum*）和品他密螺旋体（*T. carateum*）两个种。苍白密螺旋体又分3个亚种：苍白亚种（subsp. *pallidum*）、地方亚种（subsp. *endemicum*）和极细亚种（subsp. *pertenue*），它们分别引起人类梅毒、地方性梅毒和雅司。品他密螺旋体引起人类品他病。梅毒是性病，其他3种不是性病。

一、苍白密螺旋体苍白亚种

俗称梅毒螺旋体。人体是惟一宿主。

生物学性状

1. 形态与染色　直径0.10～0.15μm，波幅0.3μm，波长0.6μm，全长7～8μm。有8～14个致密而规则的小螺旋，两端尖直（图20-1）。运动活泼。

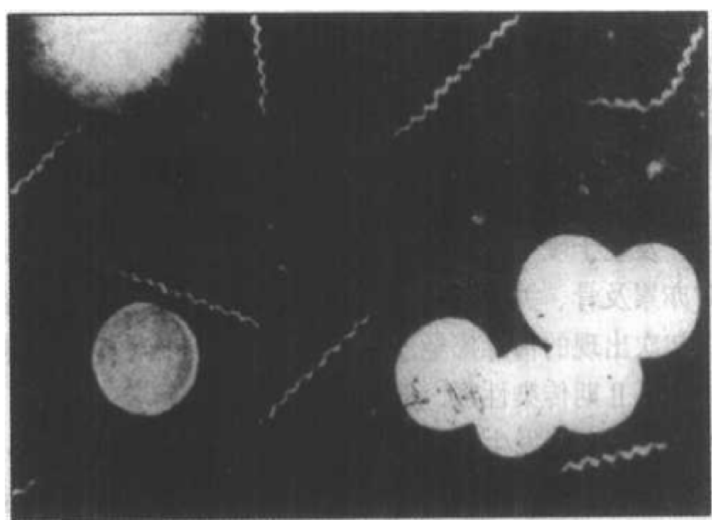


图20-1　苍白密螺旋体苍白亚种
暗视野　×4000

电镜下观察，有细胞壁和细胞膜。细胞壁外尚有包膜，细胞膜内为含细胞质和核质的螺旋形原生质圆柱体。圆柱体上紧绕着3～4根周浆鞭毛（periplasmic flagella），也称轴丝或内鞭毛（endoflagella），与运动有关。运动方式多样，有移行、曲伸、滚动等。

革兰染色呈阴性，但不易着染。Fontana镀银染色法可将螺旋体染成棕褐色，在光镜下易于查见。新鲜标本不用染色，在暗视野显微镜下，可观察其形态和运动方式。

2. 培养　苍白密螺旋体苍白亚种不能在无活细胞的人工培养基中生长繁殖。在家兔上皮细胞培养中能有限生长，繁殖慢，约30h才分裂一次，并只能维持数代。原认为该螺旋体严格厌氧，后发现在含3%～4%氧时生长最宜。

3. 抵抗力　苍白密螺旋体苍白亚种的抵抗力极弱。对温度和干燥特别敏感。加热41.5℃经1h死亡，在50℃时5min死亡；血液中的苍白亚种螺旋体，在4℃置3d后可死亡，因此4℃血库存放3d以上的血液无传染梅毒的危险。苍白亚种螺旋体离体后1～2h将死亡。对常用化学消毒剂亦敏感，1%～2%石炭酸内数分钟就死亡。对青霉素、四环素、红霉素或砷剂均敏感。

致病性与免疫性

1. 致病物质　苍白密螺旋体苍白亚种在体外细胞培养中不可能大量繁殖，因而难以检测其毒性物质。近来利用分子生物学技术，将其不同基因克隆到大肠埃希菌，然后研究各个基因产物有无致病性。迄今已发现有些基因产物只存在于有毒菌株。例如有毒株产生可与宿主细胞表面发生粘附作用的外膜蛋白；产生透明质酸酶，利于菌扩散到血管周围组织。有毒株尚能以宿主细胞的纤维粘连蛋白覆盖于其表面，以保护菌体勿受宿主吞噬细胞的攻击。梅毒中出现的组织破坏和病灶，主要是患者对该螺旋体感染的免疫损伤所致。

2. 所致疾病　自然情况下，苍白密螺旋体苍白亚种只感染人类，人是梅毒的惟一传染源。梅毒有先天性和获得性两种，前者从母体通过胎盘传染胎儿，后者主要经性接触传播。

获得性梅毒，临床上分为三期。

(1) Ⅰ期（初期）梅毒：感染后3周左右局部出现无痛性硬下疳。多见于外生殖器，其溃疡渗出液中有大量苍白亚种螺旋体，感染性极强。一般4～8周后，硬下疳常自愈。

(2) Ⅱ期梅毒：发生于硬下疳出现后2～8周。全身皮肤、粘膜常有梅毒疹，全身淋巴结肿大，有时亦累及骨、关节、眼及其他脏器。在梅毒疹和淋巴结中，存在有大量苍白亚种螺旋体。初次出现的梅毒疹经过一定时期后会自行消退，但隐伏一段时间后重又出现新的皮疹。Ⅰ、Ⅱ期传染性强，但破坏性较小。

(3) Ⅲ期（晚期）梅毒：发生于感染2年以后，亦可长达10～15年的。病变可波及全身组织和器官。基本损害为慢性肉芽肿，局部因动脉内膜炎所引起的缺血而使组织坏死。Ⅲ期梅毒损害也常进展和消退交替出现。皮肤、肝、脾和骨骼常被累及，病损内螺旋体少但破坏性大。若侵害中枢神经系统和心血管，可危及生命。

先天性梅毒，又称胎传梅毒。系母体苍白亚种螺旋体通过胎盘进入胎儿所致，多发生于妊娠4个月之后。苍白亚种螺旋体经胎盘进入胎儿血流，并扩散至肝、脾、肾上腺等大量繁殖，引起胎儿的全身性感染，导致流产、早产或死胎；或出生梅毒儿，呈现马鞍鼻、锯齿形牙、间质性角膜炎、先天性耳聋等特殊体征。

3. 免疫性　梅毒的免疫是感染性免疫，即有苍白亚种螺旋体感染时才有免疫力，一旦螺旋体被杀灭，其免疫力亦随之消失。例如Ⅰ期梅毒时，硬下疳未经治疗自愈后，患者再次感染时，不再形成硬下疳。因此时期螺旋体已经入血呈菌血症状态，感染仍是存在，只是处于潜伏状态。若硬下疳一发现，即用有效药物及时治疗，杀死患者体内的全部螺旋体。这样，局部和血液都不存在有螺旋体，亦即感染与免疫同时终止。如此时患者再次感染，则其病程重新从Ⅰ期硬下疳开始。

苍白亚种螺旋体侵入机体后，可被中性粒细胞和巨噬细胞吞噬，但不一定被杀死。只有当特异性抗体形成后，并在补体协同下，才能使吞噬加强并具杀伤作用。根据近来研究，表明在梅毒免疫中，细胞免疫比体液免疫重要。从实验资料发现，Ⅰ、Ⅱ期梅毒病变中的细胞因子类型呈现典型的Th1细胞免疫应答，同时亦有CD8 CTL参与。

微生物学检查法

1．标本　Ⅰ期梅毒取硬下疳渗出液，Ⅱ期梅毒取梅毒疹渗出液或局部淋巴结抽出液。

2．显微镜检查　新鲜标本可加盖玻片后，立即在暗视野显微镜下检查。苍白亚种螺旋体呈现活泼的运动，沿其长轴滚动、屈伸、旋转、前后移行等。亦可将标本与荧光标记的苍白亚种螺旋体抗体结合后，在荧光显微镜下观察；或用ELISA法，在普通光学显微镜下检查。

3．血清学诊断　人体感染苍白亚种螺旋体后，除产生特异性抗体外；还产生一种称为反应素（reagin）的抗体。反应素的来源有两种假说：①苍白亚种螺旋体表面存在的脂质所引起；②苍白亚种螺旋体破坏宿主细胞，由细胞释放的脂质所引起。因此，梅毒血清学试验有非密螺旋体抗原试验和密螺旋体抗原试验两类。

（1）非密螺旋体抗原试验：用正常牛心肌的心脂质（cardiolipin）作为抗原，测定患者血清中的反应素（抗脂质抗体）。最常用的有VDRL试验和RPR试验。

VDRL试验（veneral disease research laboratory）试验是1946年美国性病研究实验室创建的，故以该实验室命名之。原理是以胆固醇为载体，包被上心脂质，构成VDRL抗原微粒。当与血清中的反应素结合，就相互粘附形成凝集，是为阳性反应。不发生凝集者，为阴性反应。试验在玻片上进行，可以定性或半定量，结果需用10×10低倍显微镜观察。

RPR试验（rapid plasma reagin）是VDRL试验的改良。原理是用未经处理的活性碳颗粒（直径3～5μm）吸附VDRL抗原。此颗粒若与待检血清中的反应素结合，便形成黑色凝集块，肉眼即可识别，不需低倍镜观察。试验在专用纸卡的反应圈（内径18mm）内进行，亦可以定性或半定量。

VDRL和RPR两种试验适用于大量过筛时使用。由于它们采用的是非密螺旋体抗原，而反应素亦可以在非密螺旋体患者血清中出现，例如风疹、水痘等病毒性感染，类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等自身免疫病，麻风、疟疾，以及吸毒者，妊娠、甚至个别健康人也可呈生物学假阳性。同时，对这类敏感性很高、特异性较差的非密螺旋体抗原试验的结果分析和判定时，必须结合临床资料。

（2）密螺旋体抗原试验：采用Nichols株螺旋体作为抗原，测定血清中的螺旋体特异抗体，特异性强，可用作梅毒证实试验。常用的有FTA-ABS试验和MHA-TP试验。

FTA-ABS（fluorescent treponemal antibody-absorption）试验是一种间接荧光抗体检测方法。原理是先用Reiter螺旋体吸收去患者血清中可能存在的螺旋体杂抗体后，滴加到已吸附有Nichols株螺旋体的玻片反应圈内；然后再加入异硫氰酸荧光素标记的抗人IgG（FITC-抗人IgG）。若待检血清中有密螺旋体抗体，就会结合在玻片上固着的Nichols螺旋体上；随后加入的FITC-抗人IgG抗体，又与结合在螺旋体上的抗体作用。因而，在荧光显微镜下可观察到发荧光的Nichols螺旋体。

MHA-TP（microhemagglutination assay for antibodies to *Treponema pallidum*）试验是一种微量间接血凝试验。原理是先用Reiter螺旋体吸收去患者血清中非密螺旋体抗体

后，以 Nichols 株螺旋体提取物致敏的羊或鸡红细胞加入之。若待检血清中有密螺旋体抗体存在，则致敏红细胞与之结合后，在微量血凝板上形成散在的红细胞凝集细片，是为阳性反应。反之，待检血清不存在特异抗体时，致敏红细胞不发生凝集，这些未凝集红细胞沉降于血凝板孔底部，呈现致密小红斑，则为阴性反应。

密螺旋体抗原试验的特异性虽强，但仍不能区分雅司、品他病和地方性梅毒。又脓皮病、痤疮、真菌病、银屑病、类风关、系统性红斑狼疮、妊娠、吸毒者等也可出现生物学假阳性。因此，这些试验的结果判定，仍需结合临床资料来分析。

诊断先天性梅毒，应取脐血标本进行检测。当脐血的梅毒抗体效价明显高于母体时应疑及婴儿感染，俟后若效价恒定上升，则提示新生儿感染了梅毒。神经梅毒应检测脑脊液有无梅毒抗体的存在。

近来，也可用 PCR 技术检测苍白亚种螺旋体的特异 DNA 片段，或用免疫印迹法测定与苍白亚种螺旋体特异抗原组分发生反应的特异抗体。

防治原则　梅毒是一种性病，应加强性卫生教育和严格社会管理。梅毒确诊后，宜用青霉素等药物及早予以彻底治疗。

二、其他密螺旋体

密螺旋体属中与人类有关的尚有苍白密螺旋体地方亚种、极细亚种，以及品他密螺旋体，它们分别引起地方性梅毒、雅司和品他病。这些非性传播疾病大多发生于经济较落后地区的儿童。

地方性梅毒，也称 Bejel 病（非性病性梅毒）。人与人间的传播是通过污染的食具。临床表现与梅毒很相似。Ⅰ期口腔病灶不易察觉。Ⅱ期损害有口咽部粘膜斑、口角开裂性丘疹、骨膜炎和局部淋巴结肿大等。Ⅲ期病变有皮肤和骨的慢性肉芽肿，可造成鼻的破坏性毁形。心血管和中枢神经系统罕有累及。

雅司传播方式主要通过与感染皮肤病损的直接接触。临床表现类似梅毒。病程分三期，也有反复隐伏和再发的特点。Ⅰ、Ⅱ期主要是皮肤发生杨梅状丘疹，全身都有，以四肢和头部为多。Ⅲ期是皮肤、淋巴结和骨的破坏性病变。一般不侵犯心血管和中枢神经系统。

品他病（pinta）主要危及皮肤。传播也是与病损皮肤的直接接触所致。1～3 周潜伏期后，皮肤出现小的瘙痒性丘疹，遍及面、颈、胸、腹和四肢。继而扩大、融合，表面脱屑，是为Ⅰ期品他疹。3～12 个月后，出现Ⅱ期品他疹，色素变深。Ⅲ期品他疹常在感染后 1～3 年发生，主要表现为皮损部位色素减退，甚至消失呈白瓷色斑。最后皮肤结痂、变形。品他病不累及粘膜，无全身症状，晚期也不影响心血管和中枢神经系统。

上述三种疾病的微生物学检查，可以从皮肤标本中直接在暗视野显微镜下，观察有无密螺旋体的存在。也可用梅毒血清学试验检测此血清中有无相应抗体的存在。由于苍白密螺旋体地方亚种、极细亚种和品他密螺旋体与苍白密螺旋体苍白亚种（梅毒病原体），在形态、抗原结构，甚至 DNA 同源性方面基本相同，无法将它们各个区别。因此，除微生物学检查中查见密螺旋体并梅毒血清试验阳性可辅助诊断为密螺旋体感染外，还必须结合临床表现，才能确定是哪一种密螺旋体感染。

第二节　疏螺旋体属

疏螺旋体属，亦称包柔螺旋体属。8～40μm 长，0.2～0.5μm 宽。有 3～10 个稀疏

而不规则的螺旋，呈波状。其中部分对人类、哺乳动物或禽类有致病性。对人致病的主要有伯氏疏螺旋体、回归热螺旋体，它们均通过吸血昆虫媒介而分别致莱姆病（Lyme disease）和回归热。

一、伯氏疏螺旋体

伯氏疏螺旋体（*B. burgdorferi*）是莱姆病的病原体。莱姆病最初于 1977 年在美国康涅狄格（Connecticut）州的莱姆镇发现，故名。5 年后由 Burgdorfer 自硬蜱（*Ixodex*）体内分离出，并由 Burgdorfer 从患者分离培养证实。1985 年我国在黑龙江省林区首次发现，1988 年从病人血液分得病原体。迄今，我国已有十多个省和自治区证实有莱姆病存在。

生物学性状

1. 形态与染色　疏螺旋体，长 11～37μm，宽 0.18～0.25μm。两端稍尖。运动活泼，有扭转、翻滚、抖动等多种方式。在培养基中，数个螺旋体可不规则地缠绕一起，呈卷圈状。超微结构中，根据菌种不同，周浆鞭毛数自 2～100 根以上不等。周浆鞭毛与运动有关。革兰染色阴性，但不易着染。Giemsa 或 Wright 染色均佳。

2. 培养　营养要求高，培养基需含有长链饱和与不饱和脂肪酸、葡萄糖、氨基酸和牛血清蛋白等。微需氧，5%～10% CO_2 促进生长。适宜温度为 35℃。生长慢，在液体培养基中的分裂 1 代需 18h，一般需培养 2～3 周始可观察到生长情况。在 1% 软琼脂固体培养基中的菌落常生长在近表面，呈细小、边缘整齐，直径 0.40～0.45μm 的菌落。

3. 分类　长期以来，认为莱姆病的病原体只有伯氏疏螺旋体一个种。近来，采用 DNA 同源性分析了世界各地分出的莱姆病菌株，发现引起莱姆病的疏螺旋体至少有 3 个种，且它们在各地的分布不尽相同。①伯氏疏螺旋体，主要是美国和欧洲；②伽氏疏螺旋体（*B. garinii*），欧洲和日本为主；③埃氏疏螺旋体（*B. afelii*），亦主要从欧洲和日本分离出。

有学者应用 SDS-PAGE 分析了伯氏疏螺旋体国际代表株 B31 的蛋白图谱，将世界各地莱姆病分离株与之比较。发现美国菌株与 B31 株主要蛋白表型一致，而欧洲分离的绝大多数菌株明显不同于美国株。例如美国株都有外膜蛋白 OspA，而欧洲株极少有 OspA。研究表明，我国分离的大部分菌株的蛋白图谱更接近于欧洲菌株。

有学者按不同菌株在基因组上的异质性，将常见的伯氏疏螺旋体分为 3 个基因种（genospecies）：①基因种Ⅰ（代表株为 *B. burgdorferi* sensu stricto，B31）②基因种Ⅱ（代表株为 *B. garinii* sp. nov，20047）③基因种Ⅲ（代表株为 Vs461）。

又有学者应用单克隆抗体，对莱姆病病原体外膜蛋白 OspA 的不同表位进行血清型分类，认为可分成 4 种，除日本疏螺旋体（*B. japonica*）不感染人外，另 3 种 *B. burgdorferi* sensu stricto，*B. garinii* 和 *B. afzelii* 均可引起莱姆病。*B. burgdorferi* sensu stricto 属于 OspA 血清 1 型；埃氏疏螺旋体属于 OspA 血清 2 型；而伽氏疏螺旋体有明显的异质性，菌株分属于 OspA 血清 3～7 型。另有学者以其外膜蛋白 OspC 来分

型，谓至少可将莱姆病分离株分成 13 个 OspC 血清型。

鉴于莱姆病病原体存在着异质性，其分类尚未取得统一，现一般以伯氏疏螺旋体作为莱姆病病原体的统称。

致病性与免疫性 莱姆病是一种自然疫源性传染病。储存宿主主要是野生和驯养的哺乳动物。啮齿类中的白足鼠，畜类中的鹿更为重要。主要传播媒介是硬蜱，已确定的有 4 种：美国的丹敏硬蜱、太平洋硬蜱；欧洲的蓖子硬蜱和亚洲的全沟硬蜱。病原螺旋体主要在蜱的中肠生长繁殖。当蜱叮咬宿主时，可通过染有病原体的肠内容物返流、唾液或粪便而罹患。除硬蜱外，也可能有其他吸血昆虫参与媒介。

1. 致病物质 伯氏疏螺旋体未发现有外毒素，其致病物质有粘附素等侵袭力和内毒素等。

伯氏疏螺旋体具有粘附并侵入某些组织细胞的侵袭能力。将伯氏螺旋体加至人皮肤或成纤维细胞，可观察到螺旋体粘附、穿入并在成纤维细胞的胞质内生存。螺旋体也能粘附到人脐带静脉内皮细胞，并可被多价特异免疫血清或特异 OspB 单克隆抗体抑制。表明伯氏疏螺旋体表面存在有粘附素和入侵功能的物质，但其结构尚未完全确定。

伯氏疏螺旋体的新分离株对小鼠毒力强，在人工培养基中传代多次后可丧失毒力。同时发现小鼠对螺旋体的抗吞噬能力也大为减弱，外膜蛋白 OspA 亦随之消失。OspA 可能与抗吞噬有关。

伯氏疏螺旋体细胞壁中有 LPS 组分，具有内毒素作用。

2. 所致疾病 人被疫蜱叮咬后，伯氏疏螺旋体在局部繁殖。经 3～30d 潜伏期，在叮咬部位可出现一个或数个慢性移行性红斑（erythema chronicum migrans，ECM）。开始时为红色斑疹或丘疹，随后逐渐扩大形成一片大的圆形皮损，外缘有鲜红边界，中央呈退行性变，故似一红环；也可在皮损内形成几圈新的环状红圈，似枪靶形。皮损逐渐扩大，可达直径 5～50cm。一般经 2～3 周，皮损自行消退，偶留有斑痕与色素沉着。早期尚可有乏力、头痛、发热、肌痛等。未经治疗的莱姆病病人，约 80% 可发展至晚期，时间快慢不一，快的在发病后 1 周内出现，慢的可超过 2 年。晚期主要表现为慢性关节炎、慢性神经系统或皮肤异常。莱姆病患者的个体差异明显，轻者可为亚临床感染或仅累及一个系统，重者可同时出现皮肤、神经系统、关节、心脏等多脏器损害。任何一个系统的受累均可呈暂时性、再发和慢性化特点。不同地区可有不同临床特征，如在美国，关节炎较多见，而欧洲则以神经系统改变更常见，此可能与不同菌株有关。

3. 免疫性 当移行性红斑形成后，皮损中的伯氏螺旋体数量不多，这已由分离培养和 PCR 技术予以证实。在晚期，临床标本亦难以分离出螺旋体。因此，菌量如此少却能使疗程持续进展深受学者注目。

有报道谓伯氏疏螺旋体进入宿主体后，能激发巨噬细胞等使之产生 IL-1、IL-6 和 TNF 等细胞因子；亦能活化补体替代途径，释放 C3a、C5a 等炎症介质。促使炎症的发生，既造成机体的损伤，但亦有对宿主有益的免疫防御作用。

伯氏螺旋体的抗原性比较稳定，在体内形成的特异性抗体是清除它们的主要免疫机

制。

微生物学检查法 由于伯氏疏螺旋体在莱姆病的整个病程中数量较少，因此直接镜检和分离培养一般不做，主要依靠血清学试验和分子生物学技术来诊断莱姆病。

使用最广泛的是免疫荧光法和 ELISA。因 ELISA 在莱姆病的各期均较敏感和特异，更受到选用。IgM 抗体在移行性红斑出现后 2～4 周形成，6～8 周达峰值，一般在 4～6 个月后恢复正常。在持续性感染患者，IgM 保持高水平。IgG 抗体出现较迟，其峰值在发病后 4～6 个月，并持续至病程的晚期。若脑脊液中查有特异抗体，表示中枢神经系统已被累及。

ELISA 阳性时，需用蛋白印迹分析其特异性。IgM 抗体的主要靶抗原是 41kDa 的鞭毛抗原，IgG 抗体的靶抗原则为 31kDa OspA、34kDa OspB、21kDa OspC 和 60kDa 热休克蛋白。

由于伯氏疏螺旋体与苍白密螺旋体等在抗原结构上有共同部分，生物学假阳性难以避免。又引起莱姆病的螺旋体不只一种，特异靶抗原随不同菌株而异。因此，ELISA 和蛋白印迹分析所得结果，仍需结合临床资料判定。近来又有试用更特异的 PCR 技术，来检测疏螺旋体特异 DNA 进行莱姆病诊断的。

防治原则 疫区工作人员要加强个人保护，避免硬蜱叮咬。化学灭活全疫苗，1992 年已获准在美国家犬中使用。研制中的人用候选菌，主要是重组单一蛋白疫苗。研究最多的伯氏疏螺旋体 OspA 和 OspC，存在的问题是 OspA 变异多。又缺乏 OspA 和 OspB 的伯氏疏螺旋体突变株，在动物实验中亦可产生保护性免疫。

二、回归热疏螺旋体

回归热是由多种疏螺旋体引起的急性传染病。其临床特点为急起急退的高热，全身肌肉酸痛，1 次或多次复发，肝、脾肿大，重症可出现黄疸和出血倾向。根据回归热传播媒介昆虫的不同，可分为两类。一为虱传回归热，或称流行性回归热，其病原体为回归热疏螺旋体（*B. recurrentis*）。另一为蜱传回归热，又称地方性回归热，其病原体多至 15 种，例如杜通疏螺旋体（*B. duttonii*）、赫姆斯疏螺旋体（*B. hermsii*）等。我国流行的回归热主要是虱传型。

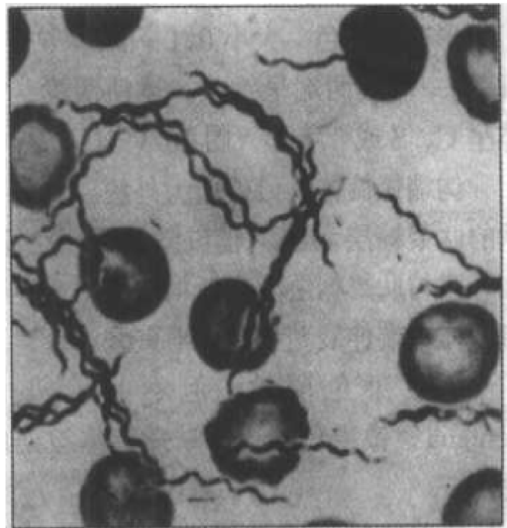


图 20-2 回归热疏螺旋体
血液涂片 ×2000

流行性回归热主要通过人体虱在人类中传播。当虱吸吮病人血液后，螺旋体从中肠进入血淋巴大量繁殖，不进入唾液或卵巢。人被虱叮咬后，因抓痒将虱压碎，螺旋体经皮肤创伤进入人体。螺旋体在人血流中大量繁殖，数量可高达 10 万条/mm^3。患者高热，持续 3～4d 后，热退；隔 1 周左右，又高热。如此反复发作 3～9 次，亦有多达 14 次者。其机制是螺旋体外膜蛋白易发生变异之故。

蜱传回归热主要通过软蜱传播，储存宿主是啮齿类动物。螺旋体在蜱的体腔、唾液、粪便内均可存

在，且经卵传代。故蜱叮咬人后，病原体可直接从皮肤创口注入体内。蜱传回归热的病程和临床表现与虱传型相似，只是病程较短、症状较轻。

回归热的免疫机制主要是以特异性抗体为主的体液免疫。当第一次高热消退前，患者血清中已出现特异的 IgM 类抗体。这些抗体与补体协同作用可裂解螺旋体，清除血流中的螺旋体。但隐匿在内组织内的螺旋体，其外膜蛋白可因编码基因重排形成新的突变株，逃逸初次感染病原体特异抗体的攻击。当这些突变株繁殖至一定数量，则引起第二次高热。如此多次，直至螺旋体的突变类型不再超越宿主产生的多种特异性抗体的范围为止。

回归热的微生物学检查法主要采取发热期血液，直接涂片后进行 Giemsa 或 Wright 染色，在光镜下可查见比红细胞长数倍的螺旋体（图 20-2）。

三、奋森疏螺旋体

奋森疏螺旋体（*B. vincentii*）的形态与回归热疏螺旋体类似。正常情况下，与梭形梭杆菌（*Fusobacterium fusiforme*）寄居于人类口腔牙龈部。当机体免疫功能下降，则这两种菌大量繁殖，协同引起奋森咽峡炎、牙龈炎、口腔坏疽等。

微生物学检查法可采取局部病变材料，直接涂片，革兰染色镜检。可观察到螺旋体和梭杆菌并存，两者均呈革兰阴性反应。

第三节　钩端螺旋体属

钩端螺旋体的螺旋较密螺旋体的更多、更细密而规则，一端或两端弯曲成钩状，故名。

钩端螺旋体属细菌很多，可分为两个种。Ⅰ种为问号状钩端螺旋体（*L. interrogans*），对人致病的属于此种。Ⅱ种为双曲钩端螺旋体（*L. biflexa*），为腐生性菌，对人不致病。

一、生物学性状

形态与染色　大小 0.1～0.2×6～12μm。螺旋细密、规则，形似细小珍珠排列的细链。一端或两端呈钩状。运动活泼，常使菌体呈 C、S 或 8 字形（图 20-3、4）。

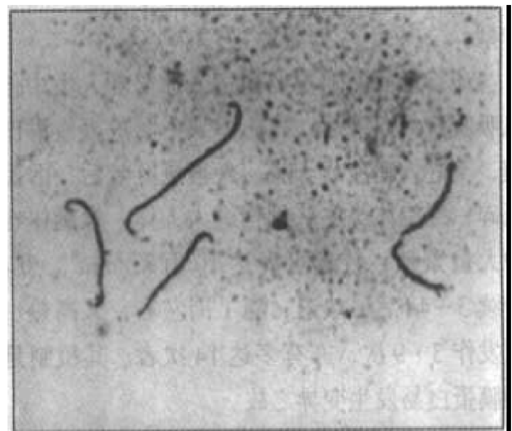


图 20-3　钩端螺旋体
镀银染色　×1800

钩端螺旋体的最外层为外膜，其内为螺旋状的肽聚糖层和细胞膜包绕的圆柱状原生质。在外膜与肽聚糖层间有两根周浆鞭毛，每根各自菌体一端伸展至中央但不重叠。

革兰染色阴性，但不易着染。常用 Fontana 镀银染色法，钩端螺旋体被染成棕褐色。

培养特性　需氧或微需氧。营养要求复杂，常用 Korthof 培养基，内含基本成分外，

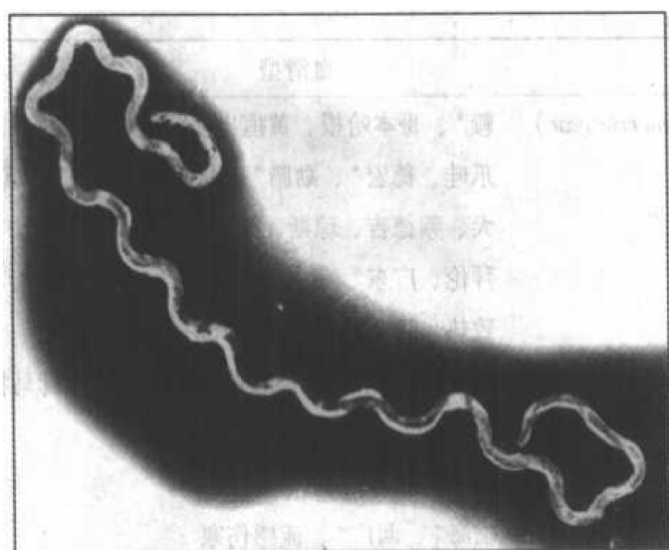


图 20-4 黄疸出血群钩端螺旋体

透射电镜（×19200 谢念铭提供）

尚需加 10%兔血清或牛血清。血清除促进钩端螺旋体生长外，尚能中和其代谢过程中产生的毒性物质。适宜生长温度为 28～30℃，若 11～13℃能生长的为非致病的双曲钩端螺旋体。最适 pH7.2～7.6，<pH6.5 死亡，最高能耐 pH8.4。

钩端螺旋体在人工培养基中生长缓慢。在液体培养基中，分裂一次需 6～8h；28℃孵育 1～2 周，液体培养基呈半透明云雾状生长。在固体培养基上，经 28℃孵育 1～3 周，可形成透明、不规则、直径<2mm 的扁平细小菌落。如将琼脂浓度减至 0.8%～1.0%，则 3～10d 孵育后，在培养基表面下形成针尖大小的半圆形菌落。

抵抗力 钩端螺旋体对热抵抗力弱，60℃ 1min 即死亡。0.2%来苏、1:2000 升汞、1%石炭酸经 10～30min 被杀灭。对青霉素敏感。在湿土或水中可存活数月，这在传播上有重要意义。

分类

1．抗原分类

(1) 属特异性抗原（genus-specific protein antigen，GP-AG）：只存在于钩端螺旋体属中，细丝体属无此抗原。故 GP-AG 有助于钩端螺旋体病的血清学诊断，也可用于钩端螺旋体科的分类.

(2) 群特异性抗原（serogroup-specific antigen）：系菌体脂质多糖复合物。

(3) 型特异性抗原（serovar-specific antigen）：系表面抗原，为多糖蛋白复合物。

应用显微镜凝集试验（microscopic agglutination test，MAT）和凝集素吸收试验（agglutination absorption test，AAT），可将钩端螺旋体属进行血清群和血清型的分类。目前问号状钩端螺旋体至少可分为 25 个血清群、273 个血清型，其中有我国学者发现的 37 个血清型。迄今，我国已发现的致病性钩端螺旋体至少有 19 个血清群、74 个血清型（表 20-2），是发现血清型最多的国家。

表 20-2 我国已发现的钩端螺旋体血清群和型

血清群	血清型
黄疸出血(*L. icterohaemorrhageae*)	赖*、哥本哈根、黄疸出血、纳姆、红河*、南溪*
爪哇（*L. javanica*）	爪哇、德宏*、勐腊*、勐润*、雅安*、镇康*、勐玛*
犬（*L. canicola*）	犬、频德吉、琼斯、渡口*
拜伦（*L. ballum*）	拜伦、广东*
致热（*L. pyrogenes*）	致热、阿不赖姆斯、莱升尼、孟连*
秋季热（*L. autumnalis*）	秋季、斑金南、福特-布拉格、摩尔斯、拉赫马特、苏门答腊、南腊*
澳洲（*L. australis*）	澳洲、乳山*
波摩那（*L. pomona*）	昆明*、波摩那
流感伤寒（*L. grippotyphosa*）	临海*、两广*、流感伤寒
七日熱（*L. hebdomadis*）	七日热、曼庄*、龙南*、南定*
赛罗（*L. sejroe*）	巴尔干、溶血、哈焦、棉兰、萨可斯可宾、屈林台德、乌尔夫、金*
巴达维亚（*L. bataviae*）	巴叶赞、巴达维亚
曼耗（*L. manhos*）	清水*、绿水*、曼耗*、临沧*、黎川*
明尼（*L. mani*）	明尼、云南*、河口*、南定*
萨明（*L. sarmin*）	威维里
赛尔东尼（*L. celledoni*）	恩儒、海南*、怀特康、勐定*
塔拉索夫（*L. tarassovi*）	哥埃达、摩尔达维亚、塔拉索夫、云县*、宁夏*、版纳*、耿马*、勐棒*
蛙（*L. ranarum*）	平昌*
四川（*L. sichuna*）	四川*

注：* 为我国分离的新血清群或血清型，均按国际标准鉴定

2. DNA 分类　应用DNA杂交技术对不同钩端螺旋体株进行DNA同源性分析，可将腐生性的双曲钩端螺旋体分成 3 个基因种，致病性的问号状钩端螺旋体分成 7 个基因种。

二、致病性与免疫性

致病物质　钩端螺旋体具有类似细菌外毒素和内毒素的致病物质。

1. **内毒素样物质**（endotoxin-like substance, ELS）或称脂多糖样物质(lipopolysaccharide-like substance, LLS)。钩端螺旋体的细胞壁中含有类似革兰阴性菌的脂多糖物质。经动物试验，其引起的病理变化与典型的内毒素相似，只是活性较低。重症患者表现的症状与病变亦与革兰阴性菌内毒素血症类同。这种 ELS 与革兰阴性菌的内毒素 LPS，在结构上有一定差异。例如 ELS 缺乏 2-酮基-3-脱氧辛酸（KDO），脂质 A 不含 3-羟基豆蔻酸，这些可能与 ELS 的毒性较低有关。

2. **溶血素**　波摩那型、犬型、七日热型等钩端螺旋体培养物上清液，有溶血素产

生，能破坏红细胞膜而溶血。注射人小羊，可出现贫血、出血、肝肿大、黄疸和血尿。溶血素不耐热，56℃经30min失活。对氧稳定，可被胰蛋白酶破坏。有认为溶血素的本质是鞘磷酶C。

3. 细胞毒性因子（cytotoxicity factor，CTF）钩端螺旋体患者急性期血浆中存在有一种CTF，将之注射小鼠，可出现肌肉痉挛、呼吸困难而死亡。症状与钩端螺旋体接种至金地鼠临死前的症状相同。钩端螺旋体无毒株不产生CTF。

另发现致病钩端螺旋体能产生一种细胞致病作用（cytopathic effect，CPE）物质。56℃经30min被破坏。注射人家兔，可形成红斑和水肿。

所致疾病 钩端螺旋体病是一种人畜共患传染病。我国已从50多种动物中检出有致病性钩端螺旋体，其中以鼠类和猪为主要储存宿主，蛇、鸡、鸭、鹅、蛙、兔等亦可能是储存宿主。

动物感染钩端螺旋体后，大多呈隐性感染，不发病。但在肾脏中长期存在，持续随尿不断排菌，污染水源和土壤。人类与污染的水或土壤接触而受感染。钩端螺旋体也可通过胎盘垂直感染胎儿，导致流产；偶有经哺乳传给婴儿或吸血昆虫传播。

钩端螺旋体纤细、运动极为活泼，能穿透完整的粘膜或经皮肤破损处进人人体。病原体进人后，即在局部迅速繁殖，并经淋巴系统或直接进入血循环引起菌血症。由于钩端螺旋体的血清型别不同、毒力不一，宿主免疫水平差异，临床表现轻重相差甚大。轻者似感冒，仅出现轻微的自限性发热；重者可有明显的肝、肾、中枢神经系统损害，肺大出血，甚至死亡。钩端螺旋体病的特点是起病急、高热、乏力、全身酸痛、眼结膜充血、腓肠肌压痛、表浅淋巴结肿大等。

免疫性 致病性钩端螺旋体进人人体后，中性粒细胞不能吞噬病菌，单核-巨噬细胞可以吞噬。若病菌数量少、毒力低，病菌被完全或大部分杀灭，则感染不形成或呈隐性感染状态。发病后1～2周，随着特异性抗体的产生并逐渐增多，使吞噬细胞的吞噬和杀伤效率大为加强，血循环中的钩端螺旋体迅速被清除。但抗体等对侵入肾脏的病菌作用较小，它们能在肾小管等组织中继续有一定程度的繁殖和经尿排菌，一般排菌在半年左右。

三、微生物学检查法

病原体检测 发病10天内取血液；1周后取尿液，有时可长达至3个月；有脑膜刺激者取脑脊液。

1. 直接镜检 将标本行差速离心集菌后作暗视野检查，或用Fontana镀银法染色后镜检。也可用免疫荧光法或免疫酶染色法检查。

2. 分离与鉴定 将标本接种至Korthof培养基，置28℃孵育。多数阳性标本在2周内可见培养液呈轻度混浊，然后以暗视野显微镜检查有无钩端螺旋体存在。若有，则用已知诊断血清诊断鉴定其血清群和血清型。分离培养标本应连续观察至4个月，仍无生长者始判定为阴性。

3. 动物接种 是分离钩端螺旋体的敏感方法，尤其适用于有杂菌污染的标本。方

法是将标本接种于幼龄豚鼠或金地鼠腹腔。接种3～5d后，可用暗视野显微镜检查腹腔液；亦可在接种后3～6d取心血检查并作分离培养。动物死后解剖，可见皮下、肺部等有大小不等的出血斑，肝、脾脏器中有大量钩端螺旋体存在。

4. 分子生物学方法　采用同位素或生物素、地高辛标记的特异DNA探针法，其检出标本中钩端螺旋体的特异性、敏感性均优于培养法，且得出结果快速。若先用PCR技术将特异DNA片段先行扩增，再用探针确定，则灵敏度更可提高。例如单用DNA探针技术，可测出200条左右的钩端螺旋体，加用PCR扩增后，则少至10条病原体就可检出。

血清学诊断　应采取病程早、晚期双份血清，一般在病初和发病后第3～4周各采一次。有脑膜刺激症状者采取脑脊液检测特异抗体。

1. 显微镜凝集试验（MAT）　或称凝溶试验。钩端螺旋体与相应的特异性抗体结合，可发生凝集现象，在暗视野显微镜下明显可见。但当补体效价高时，则在补体的参与下，出现溶解反应。MAT有较高的特异性和敏感性，但需用不同血清型别的活钩端螺旋体来作为已知抗原进行检测。

2. 间接凝集试验　以乳胶（聚苯乙烯）或活性炭微粒为载体，吸附钩端螺旋体可溶性抗原作为指示物。当这些以特异抗原致敏的载体与病人血清中的相应抗体结合后，就出现凝集现象，是为阳性反应。间接凝集试验结果可用肉眼直接观察。

以上各项血清学试验有助于钩端螺旋体病的诊断。MAT抗体效价＞1∶300，炭粒凝集效价＞1∶8、乳胶凝集效价＞1∶2，可判为阳性。但若第2次采血测定效价呈4倍或以上增长者，临床意义更大。

四、防治原则

钩端螺旋体病是一种人畜共患病，要做好防鼠、灭鼠工作，以及加强对带菌家畜的管理。

在常年流行地区，对易感人群和与疫水接触者宜接种包含当地流行株在内的多价钩端螺旋体疫苗。目前沿用的是多价全细胞死疫苗，只要疫苗株的血清型与流行株一致，有肯定预防效果。但因接种量大、接种需多次，而全菌中带有免疫预防无关的组分，因而有副反应较大等不足。为此，国内外均在研究新一代的钩端螺旋体疫苗。

我国研制的钩端螺旋体外膜疫苗，经过动物保护试验、毒力试验和安全试验，皆获得满意结果。经志愿者试验，接种后无反应或反应极为轻微。免疫后1～3个月，血清特异抗体明显上升，持续时间长。以后，在此第一代外膜疫苗研究基础上，对培养基和生产工艺作了较大改进，制成了第2代外膜疫苗。动物试验表明，接种100μg量即可获得保护作用。人体接种后，副反应轻微，一次免疫后特异抗体明显升高，免疫后3个月，抗体下降慢于全菌疫苗，提示第2代钩端螺旋体外膜蛋白疫苗可以替代传统的全疫苗，成为预防钩端螺旋体的较理想的新一代疫苗。

其他研究中的新钩端螺旋体新疫苗，尚有以其LPS或LPS与白喉类毒素偶联物作为免疫原的。小鼠实验发现两者免疫后第4周出现特异抗体，6～8周时抗体效价达峰

值，但 LPS 与白喉类毒素偶联物产生的抗体效价要比单独 LPS 的高 15～100 倍。表明钩端螺旋体 LPS 或与白喉类毒素偶联后，亦有可能成为预防钩端螺旋体病的候选新疫苗，值得进一步深人研究。

（陆德源）

第二篇 真 菌 学

第21章 真菌学概述

真菌（fungus）是一种真核细胞型微生物。有典型的细胞核和完善的细胞器。不含叶绿素、无根、茎、叶的分化。真菌广泛分布于自然界，种类繁多，有10余万种。大多对人无害，有的甚至有益。如食用蕈类，有的真菌用于生产抗生素和酿酒等。引起人类疾病的约300余种，包括致病、条件致病、产毒以及致癌的真菌。近年来真菌感染明显上升。这与滥用抗生素引起菌群失调和应用激素、抗癌药物导致免疫低下有关，应引起注意。

与医学有关的真菌有四个亚门：①接合亚门（Zygomycotina），绝大多数为无隔多核菌丝体，属条件致病性真菌，如毛霉、根霉等。②子囊菌亚门（Ascomycotina），具有子囊和子囊孢子，如芽生菌属、组织胞浆菌属、小孢子菌属及酵母菌属等。③担子菌亚门（Basidiomycotina），具有担子和担孢子，如食用菌蘑菇、灵芝以及致病性新生隐球菌等。④半知菌亚门（Deutermycotina或fungus imperfecti），对此类菌生活史了解不完全，未发现其有性阶段，故称之为半知菌。在医学上有重要意义的真菌绝大部分在半知菌亚门中，如球孢子菌属和假丝酵母菌属。最新的真菌分类是将真菌界分为4个门，即接合菌门（Zycomycota）、担子菌门（Basidomycota）、子囊菌门（Ascomycota）和壶菌门（Chytridiomycota），而将原半知菌亚门中的真菌划分到前3个门中。

第一节 真菌的生物学性状

真菌可分单细胞和多细胞两类。单细胞真菌呈圆形或卵圆形，称酵母菌（yeast）。多细胞真菌大多长出菌丝和孢子，交织成团，称丝状菌（filamentous fungus），又称霉菌（mold）。有些真菌可因环境条件的改变，而两种形态发生互变，称为二相性（dimorphic），如球孢子菌、组织胞浆菌、芽生菌和孢子丝菌等。这些真菌在体内或在含有动物蛋白的培养基上37℃培养时呈酵母菌型，在普通培养基上25℃培养时则呈丝状菌。

形态与结构 真菌比细菌大几倍至几十倍。结构比细菌复杂。细胞壁不含肽聚糖，主要由多糖（75%）与蛋白质（25%）组成。多糖主要为几丁质的微原纤维，缺乏肽聚糖，故真菌不受青霉素或头孢菌素的作用。真菌的细胞膜与细菌的区别在于真菌含固醇（sterol）而细菌无。

单细胞真菌呈圆形或卵圆形，常见于酵母菌或类酵母菌，对人致病的主要有新生隐球菌和白假丝酵母菌。这类真菌以出芽方式繁殖，芽生孢子成熟后脱落成独立个体。

多细胞丝状真菌能长出菌丝，菌丝延伸分枝，有的菌丝上长出孢子。各种丝状菌长出的菌丝和孢子形态不同，是鉴别真菌的重要标志。

1．菌丝（hypha） 真菌的孢子以出芽方式繁殖。在环境适宜情况下由孢子长出芽管，逐渐延长呈丝状，称菌丝。菌丝又可长出许多分枝，交织成团称菌丝体（mycelium）。有的菌丝伸人培养基中吸取养料，称营养菌丝。有的菌丝向上生长，称气生菌丝。其中产生孢子的称生殖菌丝。有的菌丝内能形成横隔，称隔膜（septum），将1条菌丝分成几个细胞，是为有隔菌丝（septate hypha）。大多数致病性真菌均有隔膜，隔膜中有小孔，允许胞质流通。皮肤癣菌、组织胞浆菌和曲霉等孔较大，细胞核亦可通过；有些真菌菌丝无横隔，为无隔菌丝（nonseptate hypha）。整条菌丝为1个细胞，在1个细胞内有多个细胞核。

菌丝可有多种形态：螺旋状、球拍状、结节状、鹿角状和梳状等。不同种类的真菌可有不同形态的菌丝，故菌丝形态有助于鉴别（图21-1）。

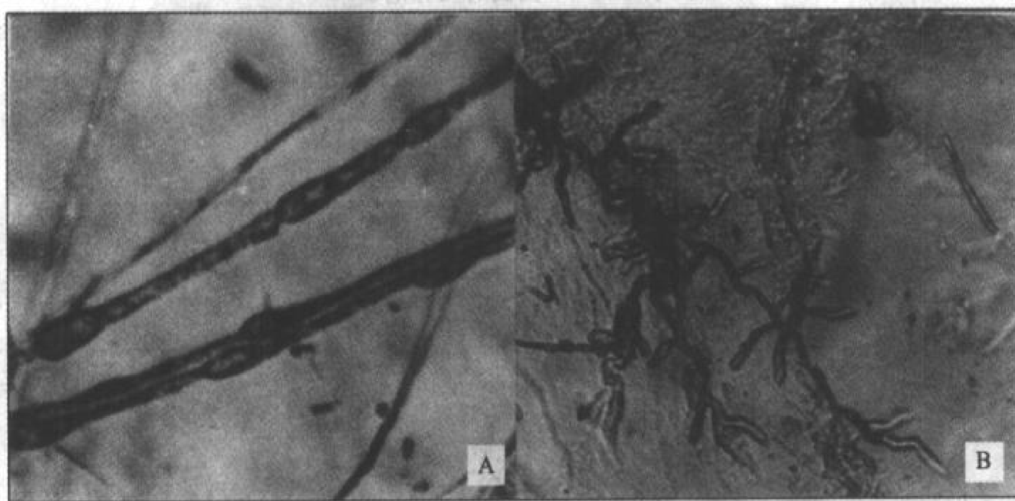


图21-1 真菌的菌丝

A. 羊毛状小孢子菌的球拍状菌丝 B. 黄癣菌的鹿角状菌丝 ×400

2．孢子（spore） 是真菌的繁殖结构，真菌的孢子与细菌的芽胞不同，其抵抗力不强，加热60～70℃短时间即可死亡。孢子可分有性孢子和无性孢子两种。有性孢子是由同一菌体或不同菌体上的2个细胞融合经减数分裂形成。无性孢子是菌丝上的细胞分化或出芽生成。病原性真菌大多形成无性孢子。无性孢子根据形态分为3种（图21-2）。

（1）分生孢子（conidium）：由生殖菌丝末端的细胞分裂或收缩形成，也可在菌丝侧面出芽形成。按其形态和结构又可分大分生孢子和小分生孢子2种：大分生孢子（macroconidium）体积较大，由多个细胞组成，常呈梭状、棍棒状或梨状。其大小、细胞数和颜色是鉴定的重要依据（图21-3）；小分生孢子（microconidium）较小，1个孢子只有1个细胞。真菌都能产生小分生孢子，其诊断价值不大。

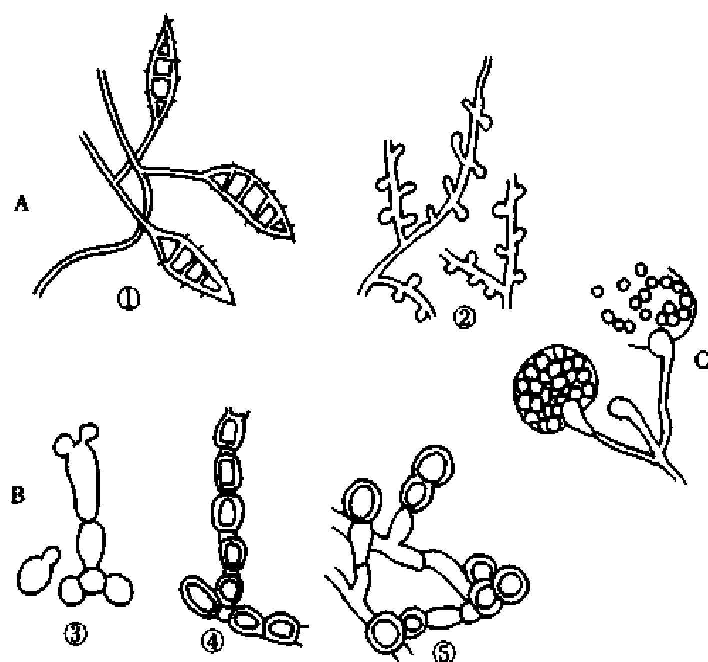


图 21-2　真菌的无性孢子

A. 分生孢子　①大分生孢子；②小分生孢子

B. 叶状孢子　③芽生孢子；④关节孢子；⑤厚膜孢子

C. 孢子囊孢子

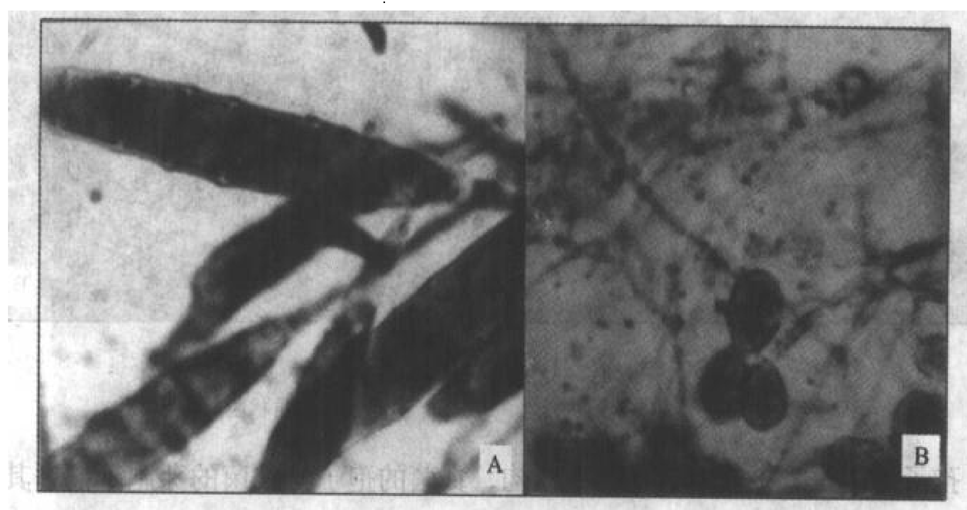


图 21-3　真菌的大分生孢子

A. 石膏样小孢子菌的梭状大分生孢子　　B. 絮状表皮癣菌的梨状大分生孢子　×400

(2) 叶状孢子（thallospore）：由菌丝内细胞直接形成。①芽生孢子（blastospore），由菌丝体细胞出芽生成，常见于假丝酵母菌与隐球菌。一般芽生孢子长到一定大小即与母体脱离，若不脱离则形成假菌丝。②厚膜孢子（clamydospore），菌丝内胞浆浓缩，胞壁增厚，在不利环境中形成，抵抗力增大。当环境有利时，厚膜孢子又可出芽繁殖。③关节孢子（arthrospore），在陈旧的培养物中，菌丝细胞壁变厚，形成长方形的节段，呈链状排列。

(3) 孢子囊孢子（sporangiospore）：菌丝末端膨大成孢子囊，内含许多孢子，孢子成熟则破囊而出，如毛霉、根霉等。

培养特性 真菌的营养要求不高，在一般细菌培养基上能生长。检查时常用沙保（Sabouraud）培养基。此培养基成分简单，主要含有1%蛋白胨、4%葡萄糖和2%琼脂，pH 5.5。皮肤癣菌在此培养基上生长较慢，常需1～4周；但腐生性真菌在此培养基上生长迅速。故分离真菌时常在此培养基中加一定量的放线菌酮和氯霉素，前者用以抑制污染真菌，后者用以抑制细菌的生长。有些病原性真菌，如白假丝酵母菌、组织胞浆菌、新生隐球菌等加放线菌酮即不能生长，宜用无抗生素的血琼脂平板，见有生长后移种沙保培养基，并同时做玻片培养以观察自然状态下的形态结构。

培养真菌最适宜的酸碱度是pH4.0～6.0，浅部感染真菌的最适温度为22～28℃。但某些深部感染真菌一般在37℃中生长最好。培养真菌需较高的湿度与氧。真菌的菌落有两类：

1. 酵母型菌落 是单细胞真菌的菌落形式，菌落光滑湿润，柔软而致密。形态与一般细菌菌落相似，如隐球菌即属之。有部分单细胞真菌在出芽繁殖后，芽管延长不与母细胞脱离，形成假菌丝。假菌丝由菌落向下生长，伸入培养基中，这种菌落称为类酵母菌落，如假丝酵母菌。

2. 丝状菌落 是多细胞真菌的菌落形式，由许多疏松的菌丝体构成。菌落成棉絮状、绒毛状或粉末状，菌落正背两面呈现不同的颜色。丝状菌落的形态、结构和颜色常作为鉴定真菌的参考。真菌有从中心向四周等距离生长形成圆形菌落的倾向，所以临床体癣、股癣、叠瓦癣等皮损表现为环形或多环形。若要真实地观察菌丝与孢子生长的关系，可作小培养。系切取一小块沙保培养基置玻片上，挑取小片真菌菌落接种在培养基周边，盖上无菌盖玻片。培养1周后用乳酚棉蓝（lactophenol cotton blue）染色。镜检可见菌丝和孢子的结构和排列。真菌容易发生变异。在培养基上人工传代或培养时间过久，其形态、培养特性甚至毒力都可发生改变。

抵抗力 真菌对干燥、阳光、紫外线及一般消毒剂有较强的抵抗力。实验证明紫外线对丝状真菌与假丝酵母菌在距离1m照射需30min杀死。但不耐热，60℃ 1h菌丝和孢子均被杀死。对2%石炭酸、2.5%碘酊、0.1%升汞或10%甲醛溶液较敏感。对常用于抗细菌感染的抗生素均不敏感；灰黄霉素、制霉菌素B、二性霉唑、克霉素、酮康唑、伊曲康唑等对多种真菌有抑制作用。

第二节 真菌的致病性与免疫性

真菌引起机体感染同样需要具备一定的毒力，如白假丝酵母菌、烟曲霉、黄曲霉的细胞壁糖蛋白有内毒素样活性，能引起组织化脓性反应和休克，烟曲霉和黄曲霉还能致多种器官的出血和坏死。白假丝酵母菌具有粘附人体细胞的能力，随着其芽管的形成，粘附力加强。二相真菌如荚膜组织胞浆菌、皮炎芽生菌等进入机体后必须先转换成酵母型在巨噬细胞中不被杀灭反而扩散。新生隐球菌的荚膜有抗吞噬作用。近来研究表明白

假丝酵母菌和烟曲霉的热休克蛋白 HSP 90 与宿主细胞和血清蛋白结合能使之功能改变，是其能致病的一种原因。至今对真菌致病性研究仅限于少数几种真菌。不同的真菌可通过下列几种形式致病。

1. 致病性真菌感染　主要是一些外源性真菌感染。浅部真菌如皮肤癣菌是由于这些真菌的嗜角质性，并能产生角蛋白酶水解角蛋白。在皮肤局部大量繁殖后通过机械刺激和代谢产物的作用，引起局部炎症和病变。深部真菌感染后不被杀死，能在吞噬细胞中生存、繁殖，引起慢性肉芽肿或组织溃疡坏死。

2. 条件致病性真菌感染　主要是由一些内源性真菌引起的，如假丝酵母菌、曲霉、毛霉。这些真菌的致病性不强，只有在机体免疫力降低时发生，如肿瘤、糖尿病、免疫缺陷、长期应用广谱抗生素、皮质激素、放射治疗或在应用导管、手术等过程中易继发感染。例如导管、插管人口为真菌人侵提供门户，真菌粘附其上，并不断增殖，从而进入血液，并播散至全身。

3. 真菌超敏反应性疾病　敏感患者当吸入或食入某些菌丝或孢子时可引起各种类型的超敏反应，如荨麻疹、变应性皮炎与哮喘等。

4. 真菌性中毒症　粮食受潮霉变，摄入真菌或其产生的毒素后可引起急、慢性中毒称为真菌中毒症（mycotoxicosis）。病变多样，因毒素而异。有的引起肝、肾损害，有的引起血液系统变化，有的作用于神经系统引起抽搐、昏迷等症状。

真菌中毒与一般细菌性或病毒性感染不同。真菌是在粮食中产生毒素，受环境条件的影响，所以发病有地区性和季节性，但没有传染性，不引起流行。粮食多次搓洗可以减少污染的毒素，有一定的预防作用。

5. 真菌毒素与肿瘤的关系　近年来不断发现有些真菌产物和肿瘤有关，其中研究最多的是黄曲霉毒素。黄曲霉毒素是一种双呋喃氧杂萘邻酮衍化物，毒性很强，小剂量即有致癌作用。根据荧光分析有 20 多种衍化物，其中 B_1 致癌作用最强，B_2 次之。大鼠口服 B_1 后易被吸收，在肝脏迅速达到高峰。B_1 与 RNA 和 DNA 结合能力很强，从而抑制细胞 RNA 与 DNA 的合成，与致癌有一定关系。在肝癌高发区的花生、玉米、油粮作物中，黄曲霉污染率很高，黄曲霉毒素含量可高达 1ppm。大鼠试验饲料中含 0.015ppm 即可诱发肝癌。也有人认为肝癌与乙型肝炎有关，经调查 90% 患者感染过乙型肝炎。故人肝癌的病因可能是多因素的，黄曲霉毒素只是重要因素之一。

自然界中并非所有黄曲霉株都能产生黄曲霉毒素。事实上无毒株多于产毒株。相反，除黄曲霉外，寄生曲霉、黑曲霉、赤曲霉、温特曲霉等也可产生黄曲霉毒素。其他致癌的真菌毒素还有赭曲霉产生的黄褐毒素也可诱生肝肿瘤，镰刀菌 T-2 毒素可诱发大鼠胃癌、胰腺癌、垂体和脑肿瘤，展青霉素可引起局部肉瘤等。

免疫性

1. 天然免疫　真菌感染的发生与机体的天然免疫状态有关，最主要的是皮肤粘膜屏障。一旦破损、受创伤或放置导管，真菌即可人侵。皮脂腺分泌饱和和不饱和脂肪酸均有杀真菌作用。儿童头皮脂肪酸分泌量比成人少，故易患头癣。成人因手、足汗较多，且掌跖部缺乏皮脂腺故易患手足癣。

在正常菌群中有细菌也有真菌。由于菌与菌之间的相互拮抗，不能大量生长引起疾病。长期应用广谱抗生素破坏菌群间的比例，或因恶性疾病以及长期服用免疫抑制剂后，机体免疫力降低，均可引起继发性真菌感染。此外，某些内分泌功能失调也是促使某种真菌感染的一种因素。如肾上腺皮质功能低下、糖尿病、甲状腺功能低下等病人，常并发皮肤粘膜假丝酵母菌病。近年来发现 tuftsin（真菌学上称促癣吞噬肽）可结合到中性粒细胞外膜上以提高其吞噬和杀菌活性，并有促趋化作用。抗真菌中中性粒细胞与巨噬细胞起重要作用，被真菌激活后释放 H_2O_2、次氯酸和防御素（defensin）能杀灭假丝酵母菌、烟曲霉等真菌。铁对活细胞是必不可少的，但铁浓度过高有助于细菌和真菌感染，如糖尿病酮中毒患者易发生毛霉病，低浓度不饱和转铁蛋白和高浓度血清铁可诱发白假丝酵母菌感染。血浆中的转铁蛋白，经皮下小血管或汗腺扩散至皮角质层内，可限制数种真菌的生长。

2. 获得性免疫　真菌感染因其胞壁厚，即使有抗体和补体也不能完全杀灭它。但特异性抗体可阻止真菌转为菌丝相以提高吞噬率，并抵制真菌吸附于体表。如白假丝酵母菌，SIgA 抗体即可与其表面甘露聚糖复合体结合阻止其吸附。但一般认为真菌感染的恢复主要靠细胞免疫，真菌抗原刺激后特异性淋巴细胞增殖，释放 IFN-γ 和 IL-2 等激活巨噬细胞、NK 细胞和 CTL 等，参与对真菌的杀伤。播散性真菌感染患者常伴有 T 细胞功能的抑制，如 AIDS、淋巴瘤和使用免疫抑制剂等。真菌感染可引发迟发型超敏反应。临床上常见的癣菌疹就是真菌感染所引起的一种超敏反应。

第三节　真菌的微生物学检查法

各种真菌的形态结构有其一定的特殊性，一般可以通过直接镜检和培养进行鉴定，但具体方法应根据标本种类和检查目的而异。

标本　浅部感染真菌的检查可用 70％乙醇棉球擦拭局部后取皮屑、毛发、指（趾）甲屑等标本。深部感染真菌的检查可根据病情取痰、血液、脑脊液等标本。

直接镜检和意义　皮屑、毛发、指（趾）甲屑等标本置玻片上。滴加 10％ KOH 少许，以盖玻片覆盖后在火焰上微微加温，使被检组织中的角质软化。轻压盖玻片，使标本变薄透明，然后在低倍或高倍镜下检查。若见菌丝或孢子，即可初步诊断患有真菌癣，但一般不能确定其菌种。皮肤癣标本检查常用湿标本，不加染色。假丝酵母菌感染则取材涂片，行革兰染色；隐球菌感染取脑脊液离心。沉淀物用墨汁作负染色后镜检。

结果的判断：①直接检查阳性有意义，阴性不能排除感染。但阴道、痰等分离出假丝酵母菌、曲霉等条件致病菌需多次阳性才有意义。②组织中发现分隔分枝的菌丝多为曲霉；粗大、不分隔或不分枝的菌丝多为毛霉。假丝酵母菌出现假菌丝代表活动性，有意义。③皮肤癣菌菌丝肥大粗长，提示处于活跃状态。④酵母型和二相型真菌在组织内常呈现为孢子。

分离培养　直接镜检不能确诊时应作真菌培养。皮肤、毛发、甲屑标本经 70％乙醇或 2％石炭酸浸泡 2～3min 杀死杂菌，无菌盐水洗净后接种于含放线菌酮和氯霉素的

沙保培养基上，25～28℃数日至数周，观察菌落特征。必要时做小培养，于镜下观察菌丝、孢子特征进行鉴定。阴道、口腔粘膜材料可用棉拭子直接在血平板上分离。若为血液需先增菌，脑脊液则取沉淀物接种于血平板上37℃培养。若疑为假丝酵母菌取菌落研种于0.5ml血清试管内，37℃ 1h后涂片革兰染色。见有假丝酵母菌细胞长出芽管即可初步鉴定为白假丝酵母珠菌。

第四节　真菌感染的防治原则

皮肤癣菌的传播主要靠孢子。遇潮湿和温暖环境又能发芽繁殖。当体表角质层破损或糜烂，更易引起感染。预防主要注意清洁卫生，保持鞋袜干燥，防止真菌孳生，或以含福马林棉球置鞋内杀菌后再穿。避免直接或间接与患者接触。真菌由于表面抗原性弱，无有效的预防疫苗。局部治疗可用5%硫磺软膏、咪康唑霜、克霉唑软膏或0.5%碘伏。若疗效不佳或深部感染可口服抗真菌药物：如二性霉素B、制霉菌素、咪康唑（miconazole）、酮康唑（ketoconazole）、氟康唑（fluconazole）和伊曲康唑（itraconazole）等。近年来发现灰黄霉素对小鼠有致癌作用，使用时应加注意。20世纪90年代以来主要使用氟康唑和伊曲康唑，对表皮癣菌与深部真菌均有疗效。

（林特夫）

第22章 主要致病性真菌

真菌按其侵犯的部位和临床表现，可分为浅部感染真菌、深部感染真菌和条件致病性真菌。

第一节 浅部感染真菌

一、表面感染真菌

这类真菌主要寄居于人体皮肤和毛干的最表层。因不接触组织细胞，很少引起宿主细胞反应。这类真菌在我国主要有秕糠马拉癣菌（*Malassezia furfur*），可引起皮肤表面出现黄褐色的花斑癣，如汗渍斑点，俗称汗斑。此菌具嗜脂性。有报道从92%正常人头皮、躯干、面部、四肢等部位分离出。诱发因素为高温多汗。由于此菌能产生对黑色素细胞有抑制作用的二羧酸，使花斑癣局部色素减退。此菌有粗短、分枝的有隔菌丝和成丛的酵母样细胞。患者皮肤用Wood灯紫外线波长365nm照射或刮取鳞屑照射，能发出金黄色荧光，有助于诊断。

二、皮肤癣真菌

引起皮肤浅部感染的真菌主要是一些皮肤癣菌（dermatophytes）。皮肤癣菌有嗜角质蛋白的特性，使其侵犯部位只限于角化的表皮、毛发和指（趾）甲，而病理变化是由真菌的增殖及其代谢产物刺激宿主引起的反应。皮肤癣，特别是手足癣是人类最多见的真菌病。皮肤癣菌分毛癣菌（*Trichophyton*）、表皮癣菌（*Epidermophyton*）和小孢子癣菌（*Microsporum*）3个属。

生物学性状 皮肤癣菌可在沙保培养基上生长，形成丝状菌落。根据菌落形态、颜色和所产生的大分生孢子，可对皮肤癣菌作出初步鉴定（图22-1）。

毛癣菌菌落为灰白、红、橙或棕色，表面呈绒毛状、粉粒状或蜡样。镜下可见细长棒状的薄壁大分生孢子和葡萄状或梨状的小分生孢子。菌丝有螺旋状、球拍状、鹿角状和结节状。

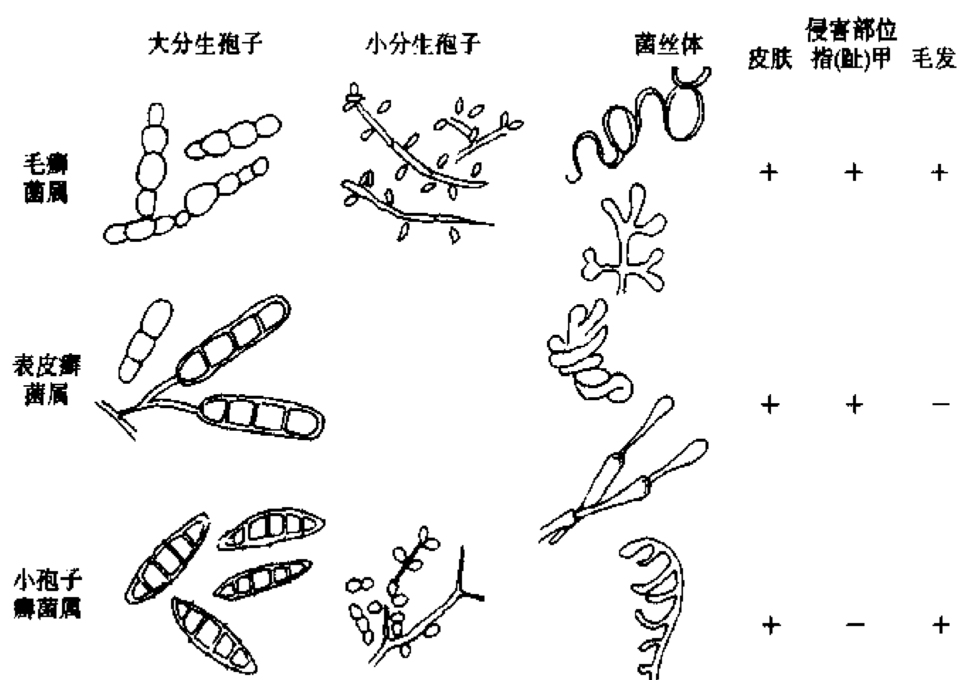


图 22-1 皮肤癣菌的孢子、菌丝形态和侵害部位

致病性 一种皮肤癣菌可在不同部位引起病变，相同部位的病变也可由不同的皮肤癣菌引起。3 种癣菌均可侵犯皮肤，引起手足癣、体癣、股癣、叠瓦癣等。毛癣菌和表皮癣菌可侵犯指（趾）甲，引起甲癣（俗称灰指甲），使指甲失去光泽，增厚变形。此外，毛癣菌与小孢子癣菌还可侵犯毛发，引起头癣、黄癣和须癣。

据我国 1998 年报道从患者分离的皮肤癣菌以红色毛癣菌（*T. rubrum*）为最多，占浅表真菌培养阳性的 56%，其次为紫色毛癣菌（*T. violaceum*）、须毛癣菌（*T. mentagrophyte*）和絮状表皮癣菌（*E. floccosum*）等，主要引起甲癣、手足癣和体癣。头癣曾在我国很多地区流行，给患者造成痛苦与终生遗憾。主要通过接触或理发工具造成传播。随着生活改善、文化知识提高及灰黄霉素广泛使用，头癣已经少见。但近年来因小宠物狗、猫的眷养，儿童的头癣又有所抬头。感染按菌种和临床表现分为黄癣、白癣和黑点癣 3 种。黄癣主要由许兰毛癣菌（*T. schoenleinii*）引起。黑点癣常由紫色毛癣菌和断发毛癣菌（*T. tonsurans*）引起，毛发脆而易断，留下黑色发根，故称黑点癣。白癣主要由铁锈色小孢子癣菌（*M. ferrugineum*）引起。头癣多见于青少年，男多于女，成年后少见。1998 年武汉 623 例浅表真菌感染培养阳性中最多见为甲癣真菌病占 35.8%，其次为手足癣 22.8%、体癣 15.8%、股癣 10.2%、头癣 7.3%。

三、皮下组织真菌感染

引起皮下组织感染的真菌主要有着色真菌和孢子丝菌。感染常发生于真菌侵入的创伤部位。感染最初发生于真皮深层、皮下组织或骨，逐渐扩展，最后可达到皮表下。感染一般只限于局部，但也可缓慢扩散至周围组织。

着色真菌是一些在分类上接近，引起的疾病症状近似的真菌的总称。感染都发生在

暴露部位，病损皮肤变黑，故称着色真菌病（chromomycosis）。在我国主要有卡氏枝孢霉（*Cladosporium carrianii*）和裴氏着色芽生菌（*Fonsecaea pedrosoi*）。着色真菌的分生孢子有3型：①树枝型：菌丝末端有分生孢子柄，柄端分叉长出孢子；②剑顶型：围绕菌丝末端或菌丝横隔处长有一圈分生孢子；③花瓶型：在菌丝分隔处长出花瓶状的分生孢子柄，在瓶口长出成丛的小分生孢子。在裴氏着色芽生菌中3型孢子均有。卡氏枝孢霉主要有树枝型，偶见花瓶型。这类真菌在沙保培养基上生长缓慢，常需数周。菌落棕褐色，表面有极短的菌丝。在人体主要侵犯肢体皮肤。潜伏期约一个多月，长者数月乃至1年。病程可长达几十年。早期皮肤患处发生丘疹，丘疹增大形成结节，结节融合成疣状或菜花状。随病情发展，原病灶结疤愈合，新灶又在四周产生。日久疤痕广泛，影响淋巴回流，形成肢体象皮肿。免疫功能低下时亦可侵犯中枢神经，或经血行扩散。

孢子丝菌属于腐生性真菌，广泛存在于土壤、植物、木材上，常因外伤接触带菌的花草、荆棘等引起感染。在农艺师最为多见。感染的主要病原为申克孢子丝菌（*Sporotrichum schenckii*）。此菌可经微小损伤侵入皮肤，然后沿淋巴管分布，引起亚急性或慢性肉芽肿，使淋巴管形成链状硬结，称为孢子丝菌下疳。此菌也可经口进入肠道或经呼吸道进入肺，随后经血行播散至其他器官引起深部感染。此病在我国传播较广，20世纪50年代以来全国大部分地区均有发现。病例以东北较多，约占全国已发表病例的70%。申克孢子丝菌是一种二相性真菌。在组织内或37℃培养为酵母相，可见有卵圆形小体（3~7×1~2μm），常位于中性粒细胞或单核细胞内，偶见有菌丝。有时在组织中见有星状体，外有嗜酸性物质向四周放射。在沙保培养基上置室温或37℃ 3~5d即见生长，开始为灰白色粘稠小点，逐渐扩大变成黑褐皱褶薄膜菌落。玻片培养可见细长的分生孢子柄从菌丝二侧成直角伸出，柄端长有成群的梨状小分生孢子。在含有胱氨酸的血平板上37℃培养，则长出酵母型菌，以出芽方式繁殖。

第二节　深部感染真菌

深部或系统性感染真菌是能侵袭深部组织和内脏以及全身的真菌。感染大多系外源性，致病性较强，能引起慢性肉芽肿样炎症、溃疡和坏死等。其中以新生隐球菌病比较常见。其它如组织胞浆菌、球孢子菌、芽生菌以及副球孢子菌等则仅出现于南北美洲等某些局部地区，故有称之为地方流行性真菌。在我国极为少见，仅有个别病例报道。

一、新生隐球菌

新生隐球菌（*Cryptococcus neoformans*）广泛分布于自然界，主要传染源是鸽子，在鸽粪中有大量存在。鸽自身有抗此菌的能力。人因吸入鸽粪污染的空气而感染，特别是免疫低下者。主要引起肺和脑的急性、亚急性或慢性感染。肺部感染后可扩散至皮肤、粘膜、骨和内脏等，故实则也是一种条件致病性真菌。

生物学特性　新生隐球菌为圆形的酵母型菌，外周有荚膜，折光性强。一般染色法不被着色难以发现，故称隐球菌。用印度墨汁作负染后镜检，可见在黑色的背景中有圆

形或卵圆形的透亮菌体，内有1个较大与数个小的反光颗粒。为双壁细胞，外包有一层透明的荚膜（图22-2）。荚膜可比菌体大1～3倍。非致病的隐球菌则无荚膜。在组织中的隐球菌较大（5～20μm），经培养后变小（2～5μm）。菌体常见有出芽，但不生成假菌丝。

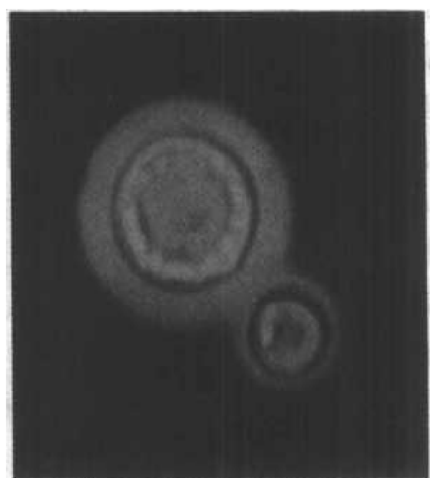


图22-2　新生隐球菌
脑脊液标本墨汁染色　×2000

新生隐球菌在沙保和血琼脂培养基上，于25℃和37℃中皆能生长，非致病性隐球菌则在37℃不能生长。新生隐球菌培养数天后即生成酵母型菌落，表面粘稠，由乳白色转变为橘黄色，最后成棕褐色。有的菌落日久液化，可以流动。此菌能分解尿素，以与假丝酵母菌区别。新生隐球菌荚膜由多糖构成，根据其抗原分为A～D 4个血清型。从临床分离的菌株，在我国约70%属A型。

致病性　新生隐球菌一般是外源性感染。肺是主要的入侵途径。大多数肺隐球菌感染症状不明显，且能自愈。有的患者可引起支气管肺炎。严重病例可见肺大片浸润，呈暴发型感染迅速致死。部分患者发生血行播散而累及中枢神经系统及其他组织。主要引起脑膜的亚急性和慢性感染，如纽约某医院报道，1982～1991 10年中151例艾滋病尸检材料发现17例合并隐球菌感染，其中12例发生脑膜炎（70.6%），其次为肺炎与淋巴结炎。

小鼠对新生隐球菌易感，将此菌注入脑、静脉或腹腔内，小鼠于1～3周内死亡。荚膜多糖是重要的致病物质，有抑制吞噬、诱使动物免疫无反应性，削弱机体抵抗力的作用。新生隐球菌经紫外线照射后失去荚膜，对小鼠的致病力也消失；一旦荚膜产生回复，致病力也恢复。

二、地方性流行真菌

这些真菌均属二相性，对环境温度敏感。一般在体内或37℃培养时呈酵母型，在室温下人工培养变为丝状型。

荚膜组织胞浆菌（*Histoplasma capsulatum*）　标本在油镜下检查可见单核细胞或中性粒细胞中有圆形或卵圆形的酵母型细胞（直径1～5μm）。以出芽繁殖，四周有不着色的荚膜样物质。在沙保培养基上室温下生长缓慢，形成白色棉絮样菌落，逐渐从黄色转变为褐色。镜检可见细长有隔菌丝，在菌丝侧面或孢子柄上长有特殊的圆形大分生孢子（8～15μm），厚壁，四周有棘突，排列如齿轮，这种孢子有诊断价值。

厌酷球孢子菌（*Coccidioides immites*）　镜检可见有较大的厚壁球孢子（20～80μm），内含许多内生孢子（2～6μm），厚壁破裂则内生孢子逸出。在沙保培养基上生长迅速，开始为白色菌落，很快变为棕黄色棉絮样菌落。镜下见有大量关节孢子。

皮炎芽生菌（*Blastomyces dermatitides*）**和巴西副球孢子菌**（*Paracoccidiodes brasiliensis*）　二者在镜下可见细胞呈酵母型，均以出芽繁殖。二者的区别是皮炎芽生

菌每1个细胞仅出1个芽，而巴西副球孢子菌细胞上可有多个芽。

第三节　条件致病性真菌

条件致病性真菌感染多为内源性，如假丝酵母菌病和曲霉病等。这类真菌致病性不强，大多在久病体弱、免疫力低下或在菌群失调时发生，如肿瘤、糖尿病、器官移植及HIV患者、长期使用广谱抗生素、放疗、化疗等过程中易伴这类真菌感染。其致病性虽弱，不及时诊治亦可危及生命。

一、假丝酵母菌

假丝酵母菌，俗称念珠菌，主要引起皮肤、粘膜和内脏的急性和慢性炎症。可以是原发性，但大多为继发性感染，发生于免疫力低下患者。口腔假丝酵母菌病常为艾滋病患者最先发生的继发性感染。假丝酵母菌属（*Candida*）中引起致病的有白假丝酵母菌（*C. albicans*）、热带假丝酵母菌（*C. tropicalis*）、近平滑假丝酵母菌（*C. parapsilokis*）、克柔假丝酵母菌（*C. krusei*）等多种。一般以白假丝酵母菌为最多见。1995年又分离出1种都柏林假丝酵母菌（*C. dubliniensis*）。近10年来假丝酵母菌感染病原菌有所改变，白假丝酵母菌感染逐渐减少，而其他假丝酵母菌感染逐渐增多，特别是都柏林假丝酵母菌感染。这种现象称为流行病学转换（epidemiological shift）。主要由于氟康唑（fluconazole）治疗，白假丝酵母菌较其他假丝酵母菌对氟康唑敏感易被杀死。都柏林假丝酵母菌容易产生耐药，故取而代之。1998年武汉地区有报道623例浅部真菌感染培养结果显示白假丝酵母菌占4.2%，其他假丝酵母菌占26.2%。371例多种送检标本中白假丝酵母菌占114例，其他假丝酵母菌占208例，故其他假丝酵母菌的检出也应予以重视。

生物学特性　白假丝酵母菌菌体圆形或卵圆形（2×4μm）。革兰染色阳性，着色不均匀。以芽生孢子出芽繁殖。孢子伸长成芽管，不与母体脱离，形成较长的假菌丝（图22-3）。芽生孢子多集中在假菌丝的连接部位。各种临床标本及活检组织标本中除

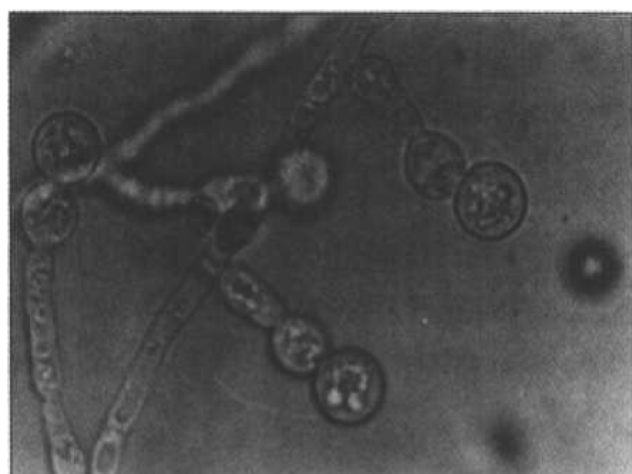


图22-3　白假丝酵母菌的假菌丝和厚膜孢子　×2000

芽生孢子外，还见有大量假菌丝，表明假丝酵母菌处于活动状态，有诊断价值。

白假丝酵母菌在普通琼脂、血琼脂与沙保培养基上均可生长良好。需氧。室温或37℃孵育1～3d长出菌落，菌落灰白色或奶油色，表面光滑，带有浓厚的酵母气味。培养稍久，菌落增大。菌落无气生菌丝，仅有大量向下生长的营养假菌丝，呈类酵母型。在玉米粉培养基上可长出厚膜孢子（图22-3）。白假丝酵母菌的芽生孢子伸长成假菌丝和厚膜孢子有助于鉴定。新近发现的都柏林假丝酵母菌也有此特征。简易的区别法为白假丝酵母菌于42℃生长良好，而都柏林假丝酵母菌生长差或不生长。有人从HIV感染和艾滋病患者分离保存的白假丝酵母菌作进一步鉴定，证明17%实为都柏林假丝酵母菌。

致病性与免疫性 假丝酵母菌可侵犯人体多个部位，如口腔与阴道粘膜、皮肤、肺、肠、肾和脑。机体抵抗力减弱是假丝酵母菌入侵的主要原因。近年来由于抗菌药物、激素和免疫抑制剂在临床上的大量使用，假丝酵母菌感染日益增多。血培养阳性仅次于大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌。

1. 皮肤粘膜感染 皮肤假丝酵母菌感染好发于皮肤皱褶处，如腋窝、腹股沟、乳房下、肛门周围、会阴部以及指（趾）间等皮肤潮湿部位，易与湿疹混淆。粘膜感染则有鹅口疮、口角糜烂、外阴与阴道炎等，其中以鹅口疮最多。鹅口疮的病灶与白喉相似，除去表面白斑即露出下面坏死组织，易误诊为白喉。鹅口疮多见于体质虚弱的初生婴儿，尤以人工喂养者较多。但当口腔正常菌群建立后就很少见到。鹅口疮一般仅限于局部，症状较轻，一旦扩散至内脏可导致死亡。

2. 内脏感染 有肺炎、支气管炎、食管炎、肠炎、膀胱炎和肾盂肾炎等。偶尔也可引起败血症。

3. 中枢神经感染 可有脑膜炎、脑膜脑炎、脑脓肿等。

对白假丝酵母菌过敏的人，在皮肤上可以发生变应性假丝酵母菌疹，症状很像皮肤癣菌疹或湿疹。患者可以表现有哮喘等症状。

二、曲　霉

曲霉（*Aspergillus*） 广布自然界，生长迅速，在沙保培养基上形成丝状菌落。开始为白色随着分生孢子的产生而呈各种颜色。引起人类致病最多见的为烟曲霉（*A. fumingatus*），主要由呼吸道入侵，引起支气管哮喘或肺部感染。在扩大的支气管和鼻窦中形成曲霉栓子或在肺中形成曲霉球，系大量曲霉繁殖成丛与纤维素、粘液以及炎症的细胞碎片等凝聚而成。此时X线显示肺内有空洞，其致密阴影在空洞内可随体位改变而移位，藉此可与结核球和肺癌区别。严重病例可播散至脑、心肌和肾等。有些曲霉能产生毒素，黄曲霉（*A. flavus*）的毒素与恶性肿瘤，尤其是肝癌的发生密切相关。

三、毛　霉

毛霉（*Mucor*） 广布于自然界。在沙保培养基上生长迅速，形成丝状菌落。初为白色，逐渐转变为灰黑色。特征是一般只有无隔菌丝、分枝成直角、无性生殖、产生孢

子囊和孢子囊孢子。此菌一般为面包、水果上和土壤中的腐生菌。在机体免疫力低下或医源性输液和污染的绷带等可导致感染，大多数发展急剧，可累及脑、肺和胃肠道等多个器官。好侵犯血管，形成栓塞，死亡率较高。

四、卡氏肺孢菌

卡氏肺孢菌（*Pneumocystis carinii*） 或称肺囊菌。过去认为属原虫，现根据形态学和分子遗传学分析证实属于真菌：因其孢子囊壁结构与真菌相似；16S rRNA 的保守区与子囊菌纲相似；5S rRNA 与接合菌纲相似。卡氏肺孢菌的生物学特性与一般真菌有些不同，可分几个阶段：最初为营养型，呈单核的孢子囊（4～5μm）；成熟的孢子囊（5.0μm）内含 8 个球状、卵圆状或梭状孢子；孢子囊成熟后破裂，释放出其中的孢子。

卡氏肺孢菌广布于自然界，可引起健康人的亚临床感染。但对一些先天免疫缺陷或因各种原因受到免疫抑制的患者，可引起肺炎。艾滋病患者当 $CD4^+$ T 细胞降至 200/mm^3 时，80%以上可受感染。发病为渐进性，开始引起间质性肺炎，最终患者因窒息而死。此菌可从痰或支气管灌洗液中用革兰或美蓝染色检出。此菌对多种抗真菌药物均不敏感，治疗可用甲氧苄氨嘧啶-磺胺甲基异恶唑（trimethoprim-sulfamethoxazole）或羟乙磺酸戊烷胺（pentamidine isethionate）。

（林特夫）

第三篇 病 毒 学

病毒（virus）是最微小，结构最简单的微生物。因体积微小，必须用电子显微镜放大几万至几十万倍后方可观察；结构简单表现为无完整的细胞结构，仅有一种核酸（RNA 或 DNA）作为其遗传物质。为保护其核酸不被核酸酶等破坏，外围有蛋白衣壳或更复杂的包膜，因此，病毒可被看作是“一包基因”。病毒必须在活细胞内方可显示其生命活性。与其他专性细胞内寄生的微生物不同点是，病毒进入活细胞后，不是进行类似细菌等的二分裂繁殖，而是根据病毒核酸的指令，使细胞改变其一系列的生命活动，结果大量地复制出病毒的子代，并且导致细胞发生多种改变。由于病毒只有一种核酸为遗传物质；必须在活细胞内显示生命活性；以及无完整细胞结构，病毒被列为一个独立的生物类型。

病毒在医学微生物中占有十分重要的地位。在微生物引起的疾病中，由病毒引起的约占 75%。常见的病毒性疾病有肝炎、流行性感冒、腹泻、艾滋病等，不仅传染性强、流行广泛，而且很少有特效药物。除急性传染病外，病毒还可引起持续性感染，有的病毒还与肿瘤及自身免疫病的发生密切相关，因此病毒已成为多学科关注的热点。研究病毒的生物学特性、致病机制与免疫应答、发展控制和消灭病毒性传染病的制品，是医学微生物学的重要任务。

第 23 章　病毒的基本性状

第一节　病毒的大小与形态

完整的成熟病毒颗粒称为病毒体（virion），是细胞外的结构形式，具有典型的形态结构，并有感染性。病毒体大小的测量单位为纳米（nanometer，nm，为 1/1000μm）。各种病毒体大小差别悬殊，最大约为 300nm，如痘苗病毒；最小约为 30nm，如脊髓灰质炎病毒、鼻病毒等。病毒体与其他微生物大小的比较见图 23-1。多数病毒呈球形或

近似球形，少数可为子弹状、砖块状，噬菌体可呈蝌蚪状（图 23-2 ）。经用磷钨酸负染后，在电子显微镜下可见到病毒表面的微细结构。简单的病毒可被结晶后用 X 线衍射分析病毒的超微结构，根据 X 线衍射图形可用数学方式处理而推导病毒体的分子构型。

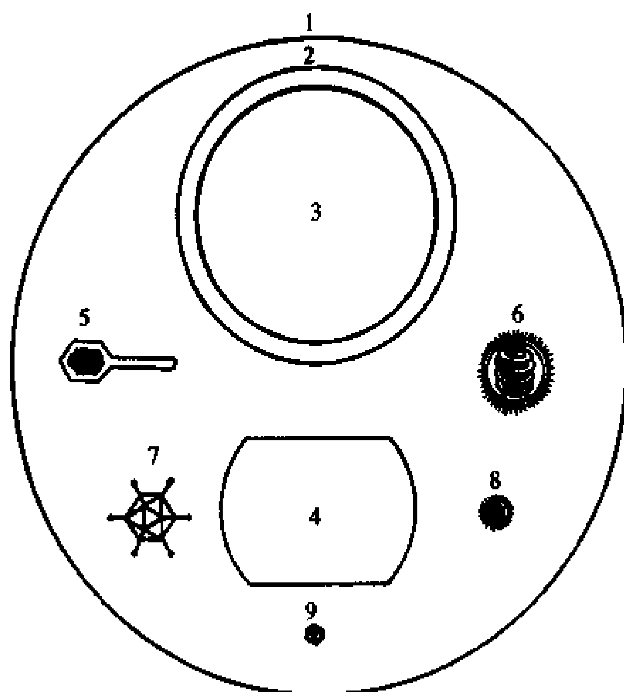


图 23-1　微生物的大小比较

1. 葡萄球菌　1000nm　　2. 立克次体　450nm
3. 衣原体　390nm　　4. 痘苗病毒　300×230nm
5. 大肠埃希菌噬菌体　65×95nm（头部），12×100nm（尾部）
6. 流感病毒　100nm　　7. 腺病毒　70nm
8. 乙脑病毒　40nm　　9. 脊髓灰质炎病毒　30nm

病毒体的内部为核酸，构成病毒的基因组（genome），是决定病毒遗传、变异和复制的物质。核酸外包有蛋白衣壳（capsid），不仅起保护病毒核酸的作用，还能介导病毒进入宿主细胞并具有抗原性。衣壳与核酸在一起称为核衣壳。衣壳是由一定数量的壳粒（capsomere）所组成。根据壳粒排列方式的不同可分为以下几种对称类型：

螺旋对称型（helical symmetry）　壳粒沿着螺旋形的病毒核酸链对称排列。见于大多数杆状病毒、弹状病毒。

20 面体对称型（icosahedral symmetry）　核酸浓集成球形或近似球形，外周的壳粒排列成 20 面体对称型。20 面体的每个面都呈等边三角形，由许多壳粒镶嵌组成。大多数病毒体三角形面由 6 个壳粒组成，称为六邻体，在三角形顶角可由 5 个壳粒组成，称为五邻体。

复合对称型（complex symmetry）　病毒体结构较复杂，既有螺旋对称又有立体对称形式。仅见于痘病毒、噬菌体等。

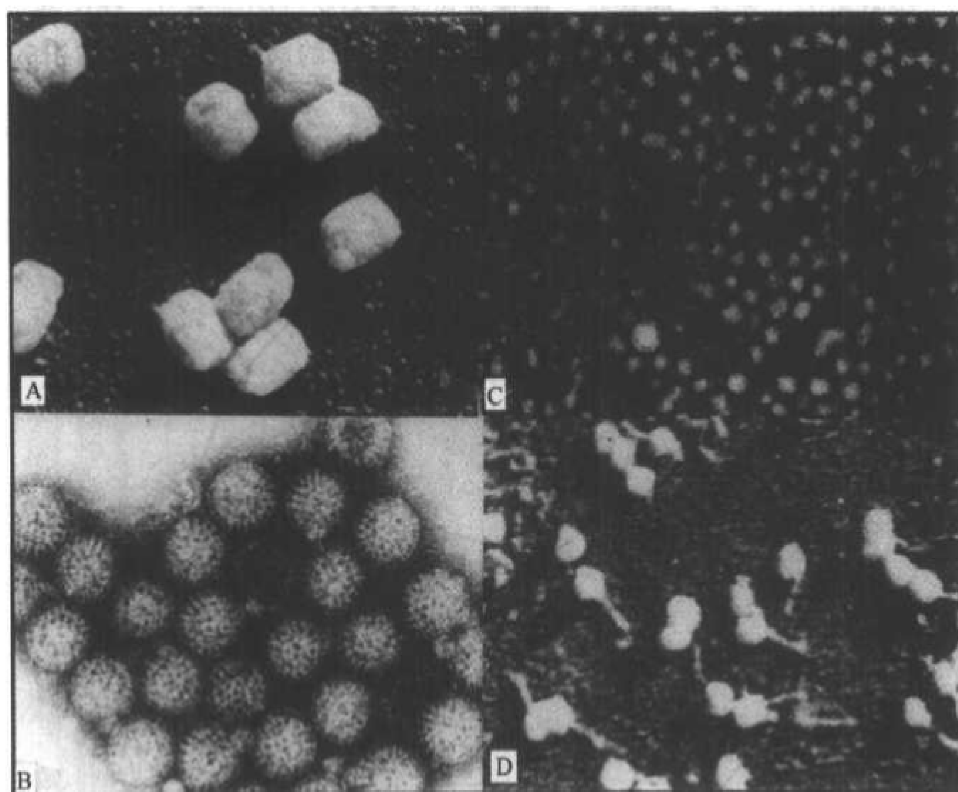


图 23-2　几种病毒电镜图

A. 痘类病毒　×3000　　B. 轮状病毒　×100000
C. 乙型肝炎病毒　×15000　　D. 细菌病毒（噬菌体）　×10000

由于病毒的基因组很小，所编码蛋白质的种类有限，衣壳不是单个蛋白分子而需由许多壳粒组成。壳粒是由少数几种重复的多肽亚单位组成。经测定，用 20 面立体构成的外壳最为坚固，并且其内部空间容积最大。螺旋对称型衣壳则相对不够坚固，因此其衣壳外尚需另有包膜（envelope）包围。包膜是病毒在成熟过程中穿过宿主细胞以出芽方式向细胞外释放时获得的，故含有宿主细胞膜或核膜成分包括脂质和少量糖类。包膜表面常有不同形状的突起，称为包膜子粒（peplomere）或刺突（spike）。有些 20 面立体对称型病毒衣壳外也具有包膜。

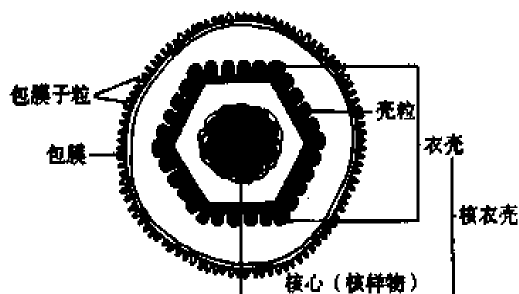


图 23-3　病毒体结构模式图

病毒体的结构和形态见图 23-3、4。

病毒的大小及形态在病毒分类中有重要的参考价值，但很少在诊断病毒感染中应用。当标本中病毒含量很高，检测的病毒又有形态学特征，并配备有电镜及有经验的病毒形态专家，观察病毒形态及大小可有重要发现。我国洪涛教授在成人腹泻标本中首次用电镜观察到一定大小的病毒体，并从其衣壳中壳粒排列成轮状，初步认定其为轮状病毒。以后经过进一步用分子生物学技术证实确为轮状病毒，从而在国际上首次发现了成人轮状病毒。

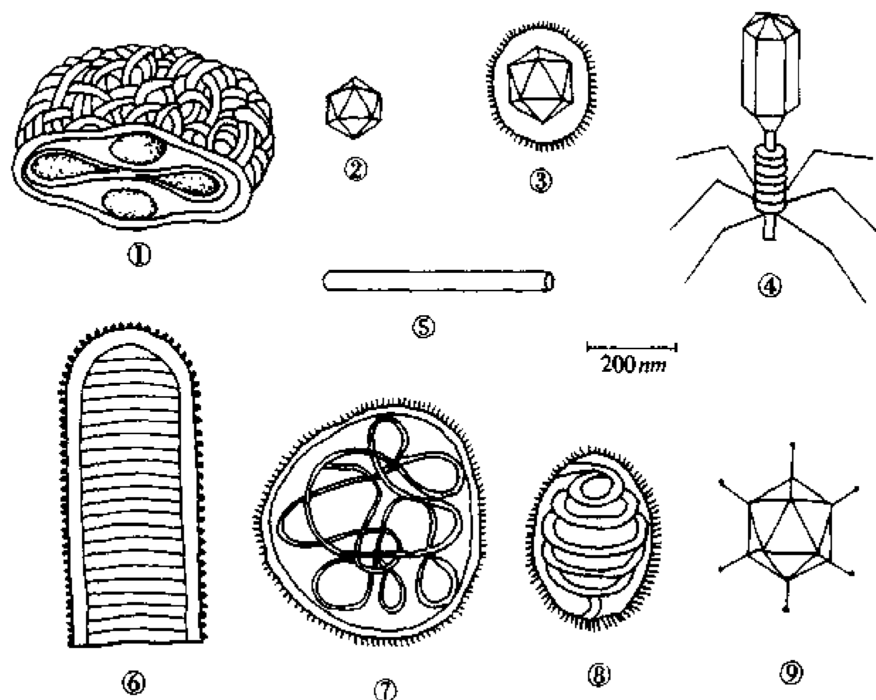


图 23-4 数种病毒体的形态与结构模式图

①痘病毒 ②小 RNA 病毒 ③披膜病毒 ④噬菌体 ⑤烟草花叶病病毒

⑥弹状病毒 ⑦副粘病毒 ⑧正粘病毒 ⑨腺病毒

第二节 病毒的核酸与蛋白质

一、病毒核酸

多样性 病毒核酸位于病毒体中心，其化学成分为 DNA 或 RNA，藉此分为 DNA 病毒和 RNA 病毒两大类。核酸具有多样性，可以为线型或环型，可为双链 RNA、单链 RNA、分节段 RNA、单链 DNA 或双链 DNA。病毒核酸的大小差别悬殊，微小病毒（parvovirus）仅由 5 000 个核苷酸组成，而最大的痘类病毒则由约 4 000 000 个核苷酸组成。病毒核酸携带病毒的全部遗传信息，是病毒的基因组。病毒基因组的序列必须被易感宿主细胞所解码，方可被识别、转录并转译出多种病毒蛋白。病毒核酸作为模板还可在细胞内复制合成子代病毒的基因组，并最终形成完整的子代病毒。因为病毒的生命活性必须在活细胞内方能显示，有学者提出：从本质上看在细胞外处于静止状态的病毒体与质粒 DNA 及转座子类似，并推测是否三者有着共同起源。

有内含子 由于病毒的基因组很小，为充分利用其核酸，病毒基因组中的多种基因常以互相重叠形式存在，即编码的几个开放读框（open reading frame，ORF）间有重叠。病毒基因的转录与转译均需在细胞内进行，因此病毒基因组的组成与真核细胞的基因组相似，而不同于细菌等原核细胞的基因组。例如细菌基因组无内含子，但病毒基因

组中有内含子，并且转录后剪接和加工。

克隆与表达 因病毒的核酸是决定病毒的感染性、复制特性、遗传性的基础，近10余年来几乎对所有病毒科的代表病毒种均进行了基因克隆并完成了核苷酸测序。此外，还用定位点突变、缺失突变等研究了病毒基因片段的功能。通过将编码有抗原性与保护性蛋白的基因克隆入表达载体后，可大量表达蛋白并可加以利用，发展为重组疫苗。上述基因组技术在DNA病毒中较易于发展，但在RNA病毒中却遇到了困难。直至运用逆转录酶（依赖RNA的DNA合成酶），以RNA病毒基因为模板，合成了互补DNA（cDNA）后，方可用限制性内切酶对cDNA进行克隆和表达。

二、病毒蛋白质

结构蛋白 由病毒核酸编码的病毒蛋白质可分为结构蛋白和非结构蛋白。结构蛋白指的是组成病毒体的蛋白成分，如病毒体的衣壳、基质（matrix）或包膜。对于结构蛋白，可通过差速离心或密度梯度离心沉淀病毒体，再用蛋白分离技术（如SDS-聚丙烯胺凝胶电泳等）进行分离与纯化。例如对脊髓灰质炎病毒衣壳蛋白，经纯化分离，发现仅由4种多肽亚单位所组成。基质蛋白是连接衣壳蛋白与包膜蛋白的部分，一般具有跨膜及锚定（anchor）的功能区。包膜蛋白因是核衣壳成熟时经过细胞的核膜或胞质膜释放时形成的，因此均具有跨膜的功能区，大部分蛋白分子突出在病毒体外，而且是糖蛋白。有些包膜上具有在电镜下可见，并有一定形状的刺突。在流感病毒和人类免疫缺陷病毒中，这些刺突具有重要的抗原性，可诱生机体的体液免疫及细胞免疫应答。

非结构蛋白 非结构蛋白可以存在于病毒体内，如病毒的酶，但也可能不存在于病毒体内而仅存在于感染细胞内，例如抑制细胞生物合成的蛋白或抑制病毒抗原经组织相容性抗原（MHC）递呈的蛋白等。对于细胞内的病毒蛋白则可用针对不同表位的标记单克隆抗体在感染细胞中进行染色与分析。此外还可用蛋白酶或糖基化抑制物在病毒感染的细胞中进行动态分析，以明确各种非结构蛋白出现的时相和其可能的作用。根据基因的核苷酸序列和对氨基酸的推导，也可利用电脑软件进行对比分析病毒蛋白的功能。非结构蛋白中具有酶功能的蛋白，如逆转录酶、蛋白水解酶、DNA多聚酶、胸腺嘧啶核苷激酶等已作为抗病毒药物作用的靶而备受重视。因为从病毒体中分离、纯化病毒酶获得量很少，对多数病毒酶功能的研究都是通过重组表达而获得病毒的酶。有些非结构蛋白具有转化宿主细胞的作用，其机制或是通过激活细胞的癌基因所致，或是蛋白本身即有此作用。编码直接转化细胞蛋白的基因被称为病毒癌基因。有些病毒的非结构蛋白还具有抗细胞因子或抗细胞凋亡作用。因此非结构蛋白的功能研究对阐明病毒的致病机制有重要价值。

第三节 病毒的培养与增殖

一、病毒的培养

病毒必须在活细胞中方能进行生命活动，因此早期对病毒生物学特性的研究主要通

过动物接种（鼠、兔、犬、牛、猴等）以培养病毒。目前动物接种仅限于研究病毒或毒株的致病性或为确切诊断某种病毒为病原体。个别病毒（如流感病毒）必须在鸡胚中进行分离培养。受精鸡胚的羊膜腔和尿囊腔均可用以分离流感病毒。

在病毒学的发展史中，利用体外培养的动物组织、胚胎或细胞，分离或培养病毒是突破性的成就。我国病毒学家黄桢祥在20世纪30年代研究马脑炎病毒时，发现在体外培养的组织块中加入病毒后，培养液的pH与无病毒的对照培养液有显著差别，提出了有可能利用体外组织培养病毒。在此基础上，Enders在非神经组织培养中成功地培养了脊髓灰质炎病毒，并进一步研制出脊髓灰质炎疫苗。Enders在诺贝尔奖金获得者的报告中还提到了黄桢祥的工作。由于组织培养及以后发展的单层或悬浮细胞培养技术具有便于纯化病毒、可直接观察细胞变化（包括细胞出现病变或转化）、可对病毒的复制过程进行基础性研究、可进行空斑纯化病毒克隆以及可滴定病毒含量等优点，至今细胞培养仍是分离病毒及了解病毒生物学特性和病毒疫苗生产的主要工具。例如当今为消灭小儿麻痹症所应用的脊髓灰质炎病毒疫苗就是用细胞培养法所生产与制备的。

培养病毒所用的细胞有原代细胞、传代细胞及双倍体细胞等不同种类。原代细胞培养是指自动物或人（来自猝死、疾病或因治疗而流产胎儿的材料）组织直接用蛋白酶消化所获得的细胞，经培养后可贴管壁生长或悬浮生长（如淋巴细胞）。原代细胞对病毒的易感性高，主要作为自标本中分离病毒的工具。传代细胞分为二倍体细胞株和传代细胞系。可连续传代的细胞系或来自肿瘤组织（如HeLa细胞）或来自发生自发转化的原代细胞系（如中国地鼠卵巢细胞系，CHO）。这些细胞系的染色体为多倍体，与正常细胞不同。二倍体细胞则为在体外连续50—60代后仍保持其二倍染色体数目的细胞。经再连续传代，则二倍体细胞逐渐衰老而死亡。这种细胞株多数用人胚肺组织建立，既可用于分离病毒，也是人用疫苗生产中首选的细胞株。在用真核表达基因工程产品时则常用CHO细胞。

由于建立了细胞培养系统才能开展对病毒复制的研究。病毒的复制过程常伴有一定的形态学与生化的变化，最早观察病毒的复制是从细胞发生形态变化入手。溶细胞型病毒感染细胞后，可出现细胞团缩、裂解和细胞肿大以及数个细胞融合成多核巨细胞或细胞聚集成葡萄串等。将病毒原液作10倍系列稀释后，可对病毒的量进行滴定。常用表达的方式为$TCID_{50}$（50%tissue culture infective dose），即能在半数细胞培养板孔或试管内引起细胞病变（cytopathic effect，CPE）的病毒量。例如在判定减毒活疫苗的质量时，常需用所含病毒量作为重要标准。此外还可利用在细胞培养的表面覆盖一层半固体物质的方法，使细胞病变形成空斑，用来纯化毒株。

二、病毒的增殖

病毒在易感活细胞内增殖的方式，不同于其他微生物的以二分裂方式繁殖。病毒是以其基因为模板，籍DNA多聚酶或RNA多聚酶以及其他必要因素，指令细胞停止合成细胞的蛋白质与核酸，转为复制病毒的基因组，转录、转译出相应的病毒蛋白，最终释放出子代病毒。这一过程称为一个复制周期。为便于阐述，将这一连续过程分成吸附

和穿入、脱壳、生物合成、组装成熟与释放四个步骤介绍，以双链 DNA 病毒为例，参见图 23-5。

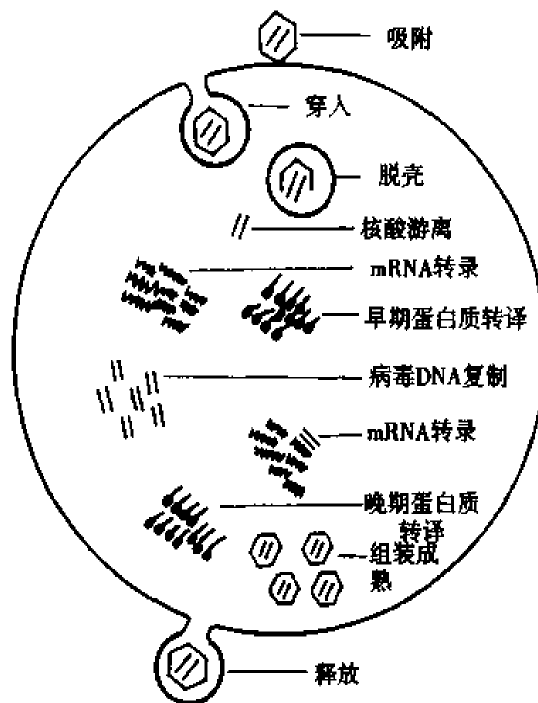


图 23-5 病毒复制图解

吸附与穿入（absorption and penetration） 病毒需先吸附于易感细胞后方可穿入。吸附主要是通过病毒的包膜或无包膜病毒衣壳表面的配体位点与细胞表面的特异受体结合所介导。体外培养细胞的受体不一定与体内组织或细胞的受体相同。例如脊髓灰质炎病毒在体外细胞培养中可感染人或猴肾细胞，但在体内主要侵犯的靶细胞是神经系统，其机制尚不明确。研究显示，各种病毒的受体不同。已知脊髓灰质炎病毒的一种衣壳蛋白可与灵长类细胞表面的 Ig（免疫球蛋白）家族的蛋白受体结合；HIV 包膜糖蛋白 gP_{160}的受体是人辅助 T 淋巴细胞表面的 CD_4 受体，但是病毒可有不止一种细胞受体，而且还有不少病毒受体尚未被确定。病毒体吸附于宿主细胞膜上，可通过数种方式穿人。有包膜的病毒多数通过包膜与宿主细胞膜融合后进入细胞，然后将核衣壳释放入细胞质内。无包膜病毒一般是通过细胞膜以胞饮方式将该衣壳吞入。

脱壳（uncoating） 病毒在细胞内必须脱去衣壳，其核酸方可在宿主细胞中发挥指令作用。多数病毒在穿入时已在细胞的溶酶体酶作用下脱壳并释放出病毒的基因组。少数病毒的脱壳过程较复杂。这些病毒往往是在脱衣壳前，病毒的酶已在起转录 mRNA 的作用。

生物合成（biosynthesis） 早期病毒基因组在细胞内进行转录、转译需先合成非结构蛋白质，即必须的复制酶和转录、转译一些抑制细胞核酸与蛋白质合成的酶以阻断宿主细胞的正常代谢。然后根据病毒基因组指令，复制病毒的核酸，合成结构蛋白质与一系列的非结构蛋白质。这一阶段并无完整病毒可见，也不能用血清学检测出病毒的抗

原，因此曾被称为隐蔽期。这一生物合成阶段的详细过程是通过用生物化学、分子生物学及标记核酸等技术研究的实验结果，综合分析所获得。

病毒基因组有不同类型。在生物合成阶段，主要根据基因组转录 mRNA 及转译蛋白质的不同分成 6 大类型：即双链 DNA 病毒、单链 DNA 病毒、单正链 RNA 病毒、单负链 RNA 病毒、双链 RNA 病毒及逆转录病毒。

1. DNA 病毒　人和动物的 DNA 病毒基因组大多数为双链 DNA，例如疱疹病毒、腺病毒。它们在细胞核内合成 DNA，在胞质内合成病毒蛋白；只有痘病毒例外，因其本身携带 DNA 多聚酶，DNA 和蛋白质都在胞质内合成。

双链 DNA 病毒的复制一般可分为早期及晚期两个阶段，早期阶段病毒先利用细胞核内依赖 DNA 的 DNA 多聚酶，转录出早期 mRNA，再在胞质内核糖体转译成早期蛋白。这些早期蛋白为非结构蛋白，主要为合成病毒子代 DNA 所需要的 DNA 多聚酶和脱氧胸腺嘧啶激酶及多种调控病毒基因组转录和抑制宿主细胞代谢的酶，为病毒核酸的复制提供酶和条件。晚期阶段则为病毒双链 DNA 通过解链后，利用早期转录、转译的酶等分别以正链 DNA 和负链 DNA 为模板，复制出子代 DNA。同时病毒 DNA 转录的 mRNA 可进入胞质转译出病毒的结构蛋白，包括衣壳蛋白及其他结构蛋白。从 DNA 病毒复制的全过程，可见随病毒基因组转录和转译的不同阶段，需要不同种类的蛋白参与调控，因此需有不同的 mRNA 转录与转译，从而使这一过程可有效并有序地进行。在生物合成中，因病毒基因组进入细胞核内，不仅有与细胞染色体基因重组与整合的机会，还有利于病毒在细胞内持续存在、激活病毒或细胞的癌基因。生物合成中，由病毒 DNA 编码的酶与细胞所提供的酶不同，因此已成为抗病毒药物所针对的“靶”。

单链 DNA 病毒种类很少。其生物合成需先合成另一条互补链，与亲代单链 DNA 形成 DNA 双链的复制中间体后，然后解链而分别转录与转译。

2. RNA 病毒　人与动物的 RNA 病毒大多数为单链 RNA 病毒。RNA 病毒的生物合成是极其独特的，因其他生物体的基因组均为 DNA。绝大数 RNA 病毒的生物合成并不需要 DNA 参与，用去核的细胞进行实验，发现 RNA 病毒仍可进行生物合成，因此 RNA 病毒只需在宿主细胞质内合成子代 RNA 及病毒蛋白质。例外的是流感病毒及个别副粘病毒，它们需要有一个细胞核内的生物合成阶段。实验证明细胞核的 mRNA 对流感病毒的转录有启动作用。

单链 RNA 病毒分为正单链 RNA 病毒与负单链 RNA 病毒。正单链 RNA 病毒的 RNA 基因组不仅可作为模板复制子代病毒 RNA，还同时具有 mRNA 的功能，可直接附着于胞质的核糖体，转译出病毒的非结构蛋白与结构蛋白。非结构蛋白包括供病毒 RNA 复制所需要依赖 RNA 的 RNA 多聚酶等，结构蛋白则包括衣壳蛋白等。负单链 RNA 病毒的基因组与正单链 RNA 病毒基因组相同之处为其基因组 RNA 也可作为模板复制子代病毒 RNA，但不同点为其基因组因为是负链 RNA 不能直接附着于胞质内的核糖体作为 mRNA 以转译病毒所需的蛋白质；因此负单链 RNA 病毒体内必须携带有依赖 RNA 多聚酶，通过自身内部先转录出核苷酸序列与亲代基因组互补的正链后，才能在核糖体上转译出相应的蛋白质。无论正单链或负单链 RNA 病毒在复制子代病毒 RNA

前都需合成另一互补链，成为复制中间型后，再分别解链进行复制。不同点是正单链RNA病毒所合成互补链的RNA多聚酶是由其本身RNA作为mRNA转译所合成；而负单链RNA病毒的RNA多聚酶则是病毒体内所携带的。因多数RNA病毒的合成不进入细胞核内，因此不会出现RNA病毒的整合（逆转录病毒例外）。宿主细胞中并无依赖RNA的RNA多聚酶，因此这一酶可作为抗病毒作用的“靶”。在生物合成中，RNA病毒形成的复制中间型可高效地大量复制，因此RNA病毒增殖一个周期所需时间少于DNA病毒。

逆转录病毒虽也是单链RNA病毒，但其生物合成过程完全不同。因为这类病毒体带有逆转录酶，可用病毒亲代RNA为模板合成互补的DNA链，从而构成了RNA：DNA中间体。随后，在中间体中的RNA由细胞编码的RNA酶H水解去除的同时，进入细胞核，经细胞的DNA多聚酶作用，以DNA链为模板合成互补的另一条DNA链而成为双链DNA分子。这一双链DNA分子通过整合入细胞的染色体DNA上，成为前病毒（provirus），并可随宿主细胞的分裂而存在于子代细胞内。前病毒还可在核内经细胞的依赖DNA的RNA多聚酶转录出病毒的mRNA与子代病毒的RNA。后者可在胞质核糖体上转译出子代病毒蛋白质。逆转录病毒独特的生物合成过程使其成为第一个被确定的人类肿瘤病毒。人类T淋巴细胞白血病病毒（HTLV-I及HTLV-Ⅱ）就是逆转录病毒。此外，HIV也是逆转录病毒；现有的抗HIV药物之一就是针对逆转录酶的制品。

装配与释放（assembly and release） 根据病毒的种类不同，在细胞内复制出子代病毒的核酸与蛋白质，在宿主细胞内装配的部位也不同；分别可在胞核内、胞质内、核膜及胞质膜上。无包膜病毒装配成的核衣壳即为成熟的病毒体；有包膜的病毒，装配成核衣壳后以出芽方式释放。释放时可包有核膜或胞质膜而为成熟病毒体。包膜上的脂质来自细胞，可随在不同细胞内增殖而有不同，但包膜的蛋白（包括糖蛋白）则由病毒编码，故具有病毒的特异性与抗原性。

三、病毒增殖的细胞效应

病毒在复制过程中阻断或抑制宿主细胞的正常代谢，可致细胞损伤、裂解并释放出大量的子代病毒（如脊髓灰质炎病毒等）。出芽释放的病毒（如疱疹病毒等）虽然不直接裂解细胞，但在体外细胞培养中可因细胞功能及新陈代谢的改变最终导致细胞死亡。有些病毒（如巨细胞病毒）的子代病毒很少释放至细胞外，而是通过细胞间桥，或通过细胞融合方式侵入新的细胞。至于逆转录病毒则一方面可以出芽方式释放子代病毒，一方面还可通过整合有病毒基因的细胞分裂后，将病毒基因传递入子代病毒。至于基因分节段的RNA病毒（如流感病毒等）如何能有效地分别复制各节段并有序地将各节段装配成完整病毒体？通过出芽形式大量释放的乙型肝炎病毒，为何在释放完整病毒的同时过量释放无核酸的包膜抗原颗粒等？都是尚未解决的问题。

当两种病毒同时感染同一细胞时，可发生一种病毒的增殖抑制了另一种病毒增殖的现象称为干扰现象（interference）。有时同种病毒的不同型或不同株之间也可发生干扰

现象。对这一现象机制研究首先考虑的是第一种病毒感染后，宿主细胞表面的受体被结合或细胞发生了代谢途径的变化，从而阻止了另一种病毒的吸附、穿入细胞或生物合成。进一步研究发现，经灭活的病毒也具有干扰作用，这就难以用代谢途径变化来解释。以后发现灭活病毒在细胞中可诱导细胞产生抑制病毒复制的一组蛋白质，被称为干扰素（interferon，IFN）。干扰素的发现启动了一系列细胞抗病毒作用及病毒免疫的研究。

四、病毒的异常增殖

病毒进入宿主细胞后，可因病毒本身基因组不完整或发生了变化，以致不能在细胞内完成增殖的全过程和复制出有感染性的病毒体。另一方面，如宿主细胞缺乏病毒复制所需的酶、能量等条件，病毒也不能复制和装配释放成熟病毒体。

缺陷干扰颗粒 带有不完整基因组的病毒体，称为缺陷病毒（defective virus）。当缺陷病毒不能复制，但却能干扰同种成熟病毒体进入细胞则被称为缺陷干扰颗粒（defective interfering particles，DIP）。过去一度曾设想用 DIP 作为抗野毒株病毒复制的制剂，然而后来发现 DIP 具有两面性，即在干扰野毒株的同时，野毒株的完整基因组也可弥补缺陷病毒基因组的不足，辅助缺陷病毒增殖出完整病毒。结果使 DIP 与野毒株各自有增多及减少的消长动态。在自然界还发现有些种的病毒是天然的缺陷病毒，需要在另一种病毒辅助下方可增殖，如腺病毒伴随病毒，是小的单链 DNA 病毒，必须有腺病毒辅助方可增殖。这种自然存在的缺陷病毒究竟是如何演变与成熟的，还待研究。

顿挫感染 因细胞条件不合适，病毒虽可进入细胞但不能复制的感染过程被称为顿挫感染（abortive infection）。构成顿挫感染的细胞被称为非容许性细胞（non-permissive cells）。能支持病毒完成正常增殖的细胞则被称为容许性细胞。当病毒感染体内一些不是其正常感染时相应的靶细胞时，这些细胞则是非容许细胞。在非容许性细胞内病毒可以存在，但不完成正常增殖周期。如果条件改变，病毒能经过非容许性细胞介导而进入容许性细胞后，在体内可出现完整病毒的增殖。

第四节 病毒的遗传与变异

对病毒遗传与变异的研究经历了两个阶段，即传统的遗传学和分子遗传学阶段。由于病毒基因组较简单，其基因数在 3～10 个之间，每种病毒只有一种 DNA 或 RNA，增殖速度极快，例如单个腺病毒在一个细胞内可产生相当于 17 代的 25 万个子代 DNA 分子，因此最早即用病毒作为研究分子遗传学的工具。

一、传统遗传学

病毒传统遗传学的研究主要是用不同表型的病毒变异株之间遗传物质的交换来分析各种病毒基因所编码的生物学功能。常用的病毒为腺病毒、流感病毒和辛德毕斯病毒

(Sindbis virus) 等。采用的突变株 (mutant) 是从自然界分离，或是用紫外线、亚硝酸等理化因子诱发而获得的变异株。

突变株 突变株需具有容易检测与识别生物学特性：如温度敏感 (temperature sensitive, ts) 突变株是指在 28～35℃的温度下可以复制，但当温度升至 37～40℃ 则不能复制的突变株；宿主范围突变株指的是改变宿主范围的突变株；此外还有抗原性突变株、致病性减弱及耐药性突变株等。一般突变株指的是因基因改变而发生某些生物特性改变的毒株。当该突变株能较稳定地存在，并可在相应的宿主或细胞中传代与存活，则称为变异株 (variant)。由于病毒群体中常同时存在基因组略有不同的病毒体，因此在研究中常利用病毒稀释后在单层细胞形成空斑，经三次纯化而获得纯度高的毒株。

重组与重配 获得具有不同生物学特征的毒株后，病毒传统遗传学的研究方法是将两个有亲缘关系但生物学不同的性状的毒株感染同种细胞，从而可发生核酸水平上的互换而产生兼有两亲本特性的子代。这种由于核酸间的互换而形成子代的过程称为重组 (recombination)，可以用于 DNA 病毒或 RNA 病毒。对于基因分节段的 RNA 病毒，如流感病毒、轮状病毒等，通过交换 RNA 节段而进行的重组被称为重配 (reassortment)。重配发生的几率可高于基因组为单一分子的其他病毒。

表型混合 由于病毒增殖过程中，核酸复制与转录、转译合成的病毒蛋白分别在细胞的不同部位进行，因此有时两株病毒共同感染时，并未发生核酸的交换。但当一种病毒核酸被另一种病毒核酸所编码的蛋白衣壳包裹后，也会发生一些生物学特征 (如耐药性，嗜细胞性) 的改变。这种改变不是遗传型的改变而是表型的混合，经再次传代后，子代病毒的特性将由病毒体的核酸所决定，失去了由表型混合而出现的性状改变。因此在获得有新生物学特性的病毒株时，应通过传代，考验新特性的稳定性，以区别重组体与表型混合。

传统遗传学所用的方法和技术虽很复杂与繁琐，但在这一阶段研究中对病毒基因及功能的分析提供了有意义的成果。例如已知 ts 变异株常伴有毒力减弱，我国学者将甲型肝炎病毒感染细胞置于相对低的温度下连续传代，结果筛选出减毒的甲肝病毒株，制备了疫苗，并已用于预防甲型肝炎。此外，重组技术在研制以痘苗病毒为载体的多重新型疫苗中也仍被沿用。利用重配来研究流感病毒的分子流行病学和发展疫苗也在进行中。传统病毒遗传学的优点为，将病毒基因改变与生物学特性直接联系，能较快地揭示病毒基因的功能。

二、分子遗传学

20 世纪 70 年代末开始了用分子遗传学及克隆技术研究病毒的基因，从而将病毒遗传学推进到分子遗传学阶段。随后开展了对病毒基因组的全面研究，即对病毒的全长基因组分别作克隆与核苷酸测序。我国学者已完成对天坛株痘苗病毒 (约 0.2Mb) 的全基因测序，结果发现与国外痘苗毒株有明显的差异。此外，还完成了我国甲、乙、丙、戊、庚型肝炎病毒株的全基因测序。核苷酸序列分析仅从结构上了解了病毒基因组，因此还需从病毒基因组的开放读框 (ORF) 推导其中编码蛋白的基因，并分别将基因克隆

入表达载体，获纯化蛋白后进行功能研究。由此，可更直接、快速地研究表达基因的结构与功能。应用基因点突变、基因片段缺失、基因片段互换等技术，可更精确地了解基因片段，甚至是单一核苷酸的改变的意义。此外，通过对自然界分离的各种病毒科、属、株的一些基因片段的分析和比较，可以了解基因变异的生物学意义。对病毒基因结构与功能的分子生物学研究，已从理论及应用上促进了病毒学的发展。例如：

病毒基因结构分析 通过对 RNA 病毒基因的研究、对甲型流感病毒分析，了解了 8 个节段编码的蛋白功能，从而可对其编码重要的血凝素抗原进行测序分析，并及时发现带有非人来源（禽、猪）流感毒株血凝素的毒株。通过对丙型肝炎病毒基因组分析，发现有较多的编码非结构蛋白的基因，其中已可确定编码病毒 RNA 多聚酶基因的序列和位置。

病毒保护性表位的确定 根据核苷酸序列分析，分别克隆与表达不同的病毒包膜蛋白，经免疫原性研究，可以确定表达保护性抗原的位点，如在乙型肝炎病毒表达中已确定编码表面抗原中的“a”决定簇表位（第 120～147 为氨基酸）是具有保护性的表位。

病毒抗原高变区的分析 根据基因分析，HIV 的包膜抗原编码区（env）中有易发生突变的高变区，容易逃逸机体的免疫应答。

与毒力相关的基因编码区分析 狂犬病病毒基因分析发现，编码病毒 G 蛋白第 333 位氨基酸若由精氨酸变为谷氨酰胺或异亮氨酸，则病毒在神经细胞中的增殖及扩散力将大大降低。

耐药性变异分析 临床上应用针对病毒酶的药物后，有时病毒经短暂被抑制后又重新复制。分析病毒酶的基因编码区可发现核苷酸序列的变异与耐药性发生的关系。

作用于病毒基因的某些细胞蛋白研究 病毒在细胞内复制时常有一些细胞蛋白与某些基因或基因调控区（增强子、启动子）结合，在转录与转译中起作用。分析这些蛋白因子的作用对了解病毒与细胞的相互作用很有价值 。

第五节　病毒的分类

生物的分类是基于对生物体本质与特性认识基础上所形成的。对病毒分类的原则是：①核酸类型与结构（RNA、DNA、双链、单链、线状、环状、是否分节段）；②病毒体的形状和大小；③病毒体的形态结构（衣壳的对称型、有无包膜）；④对脂溶剂的敏感性等。1995 年国际病毒分类委员会第一次将病毒分为三大类，即在原有的 DNA 病毒类与 RNA 病毒类之间新增了 DNA 和 RNA 逆转录病毒类。这一新类包括了原属 RNA 病毒类的逆转录病毒科（HIV 属此科）和原属 DNA 病毒类的嗜肝 DNA 病毒科（乙型肝炎病毒属此科）。这一新动向突出了逆转录过程，因这两科病毒均有自 RNA 病毒向 DNA 病毒的逆转录。这一新类病毒的增加也反映了不仅应重视病毒的基因结构，还应重视其基因的转录及转译蛋白质的过程。由于逆转录过程涉及宿主细胞的有关基因，是研究病毒与细胞互相作用的一个重要环节。从此分类学的变化，可以看出病毒与细胞间的相互作用已上升到病毒学的更重要的地位（表 23-1）。

表 23-1 感染人类的重要病毒分类表

病毒类型	分类的主要特点	病毒科名
DNA 病毒	双链 DNA，有包膜	痘病毒科（Poxviridae）
	双链 DNA，有包膜	疱疹病毒科（Herpesviridae）
	双链 DNA，无包膜	腺病毒科（Adenoviridae）
		乳多空病毒科（Papovaviridae）
	单链 DNA，无包膜	细小病毒科（Parvoviridae）
DNA 和 RNA 病毒	双链 DNA，复制过程中有逆转录，不分节	嗜肝 DNA 病毒科（Hepadnaviridae）
	逆转录病毒单链 RNA，复制过程中有逆转录，不分节，有包膜	逆转录病毒科（Retroviridae）
RNA 病毒	双链 RNA，分节，无包膜	呼肠病毒科（Reoviridae）
		双 RNA 病毒科（Birnaviridae）
	单负链 RNA，不分节，有包膜	副粘病毒科（Paramyxoviridae）
		弹状病毒科（Rhabdoviridae）
	单负链 RNA，分节，有包膜	正粘病毒科（Orthomyxoviridae）
		布尼亚病毒科（Bunyaviridae）
		沙粒病毒科（Arenaviridae）
	单正链 RNA，不分节，无包膜	小 RNA 病毒科（Picornaviridae）
		杯状病毒科（Caliciviridae）
		星状病毒科（Astroviridae）
	单正链 RNA，不分节，有包膜	冠状病毒科（Coronaviridae）
		黄病毒科（Flaviviridae）
		披膜病毒科（Togaviridae）

卫星病毒（satellites）和类病毒（viroids）是一些新的非寻常病毒的致病因子。

卫星病毒：多数与植物病毒相关，少数与噬菌体或动物病毒相关。如腺病毒的卫星病毒（dependovirus）。卫星病毒可分为两大类，一类可编码自身的衣壳蛋白，另一类为卫星病毒 RNA 分子（也曾被称为拟病毒，virusoid），需利用辅助病毒的蛋白衣壳。其特点为，是 500～2000 个核苷酸的单链 RNA，与缺陷病毒不同，表现为与辅助病毒基因组间无同源性；复制时常干扰辅助病毒的增殖。

类病毒：很小的杆状 RNA 分子，由 200～400 个核苷酸组成，有二级结构，无包膜或衣壳。在细胞核内增殖，利用宿主细胞的 RNA 多聚酶Ⅱ进行复制。

目前认为丁型肝炎病毒是一种特殊的嵌合分子，具有部分卫星病毒及部分类病毒的特性。

朊粒（prion）曾亦一度归属于非寻常病毒的致病因子；但经近年深入研究，不少学者认为不宜列入病毒范畴，其生物学地位待定。

（闻玉梅）

第24章　病毒的感染与免疫

第一节　病毒的致病作用

病毒的感染是从侵入宿主开始，然而其致病作用则主要是通过侵入易感细胞、损伤或改变细胞的功能而引发。因此可从整体及细胞两个层次分别阐述。

一、整体水平的病毒感染

(一) 感染类型　病毒主要通过皮肤、粘膜（呼吸道、消化道或泌尿生殖道）传播，但在特定条件下可直接进入血循环（如输血、机械损伤、昆虫叮咬等）而感染机体。这种传播方式被称为水平传播。通过胎盘或产道将病毒由亲代传播给子代的方式称为垂直传播或围生期传播，主要见于发生病毒血症或病毒与血细胞紧密结合的感染，如巨细胞病毒、人类免疫缺陷病毒（HIV）及乙型肝炎病毒等（表24-1)。

表24-1　人类病毒的感染途径

主要感染途径	传播方式及媒介	病毒种类
呼吸道	空气、飞沫或皮屑	流感病毒、鼻病毒、麻疹病毒、风疹病毒、腮腺炎病毒、腺病毒及部分EB病毒与肠道病毒、水痘病毒等
消化道	污染水或食品	脊髓灰质炎病毒、其他肠道病毒、轮状病毒、甲肝病毒、戊肝病毒、部分腺病毒
输血、注射或器官移植	污染血或血制品污染注射器	人类免疫缺陷病毒、乙肝病毒、丙肝病毒、巨细胞病毒等
眼或泌尿生殖道	接触、游泳池、性交	人类免疫缺陷病毒、疱疹病毒1、2型、肠道病毒70型、腺病毒、乳头瘤病毒
经胎盘、围生期	宫内、分娩产道、哺乳等	乙肝病毒、人类免疫缺陷病毒、巨细胞病毒、风疹病毒
破损皮肤	昆虫叮咬、狂犬、鼠类	脑炎病毒、出血热病毒、狂犬病病毒等

机体感染病毒后，依病毒的种类、毒力强弱和机体免疫力等不同，可表现出不同的临床类型。如不引起临床症状的隐性感染又称亚临床感染（inapparent or subclinical infection）和出现临床症状的显性感染或感染性疾病（apparent infection or infectious disease）。根据临床症状的长短，可分为急性与慢性感染等。

病毒的持续性感染（persistent viral infection）是病毒感染中的一种重要类型。在这类感染中，病毒可在机体内持续数月至数年、甚至数十年。可出现症状，也可不出现症状而成为长期带病毒，引起慢性进行性疾病，并可成为重要的传染源。此外，也可引发自身免疫病或与肿瘤发生相关。持续性病毒感染的致病机制不同，而且临床表现各异。根据患者的疾病过程和动物实验与细胞培养中的表现，可分为三种：

慢性感染（chronic infection） 显性或隐性感染后，病毒未完全清除，可持续存在血液或组织中并不断排出体外，可出现症状，也可无症状。在慢性感染全过程中病毒可被分离培养或检测，例如巨细胞病毒、EB病毒所致的慢性感染及慢性乙型肝炎、人类免疫缺陷病毒感染等。

潜伏性感染（latent infection） 经隐性或显性感染后，病毒基因存在于一定的组织或细胞中，但并不能产生有感染性的病毒体，在某些条件下病毒可被激活而急性发作。急性发作期可以检测出病毒的存在。例如单纯疱疹病毒感染后，在三叉神经节中潜伏，此时机体既无临床症状也无病毒排出；以后由于机体劳累或免疫功能低下等因素影响，潜伏的病毒被激活后沿感染神经到达皮肤、粘膜，发生单纯疱疹。水痘病毒初次感染儿童引起水痘，痊愈后，病毒可长期潜伏在脊髓后根神经节或颅神经的感觉神经节细胞中，在患者发生肿瘤或年龄增大而免疫力降低时，病毒可被激活、增殖并扩散至皮肤发生带状疱疹。

慢发病毒感染（slow virus infection） 较为少见但后果严重。病毒感染后有很长的潜伏期，既不能分离出病毒也无症状。经数年或数十年后，可发生某些进行性疾病，并导致死亡。有些慢发病毒感染是由寻常的病毒所引起，如儿童期感染麻疹病毒恢复后，经过十余年后可发生亚急性硬化性脑炎（SSPE）。开始对SSPE的病因不明，经过大量研究在患者脑组织中用特殊的细胞共培养等技术后，才证实是由麻疹病毒所致。至今还有一些病因未知的疾病如多发性硬化症（multiple sclerosis）也被认为可能是一种慢发病毒感染，又如动脉硬化症及糖尿病，因发现病变组织中存在巨细胞病毒及肠道病毒基因片段，也被认为可能为慢发病毒感染。除寻常病毒外，还有一些非寻常病毒或待定生物因子（如朊粒）也可能引起慢发感染。

构成持续性感染的机制主要可分为病毒因素（出现基因缺陷或病毒变异、病毒基因整合、病毒侵犯免疫细胞致机体不能形成有效的免疫应答等），和机体因素（遗传因素、抗体或细胞免疫功能异常等）。应该说明的是，迄今对各种病毒持续性感染的机制还在研究之中。

（二）感染过程与结局 病毒在机体内的感染过程指的是病毒入侵部位，病毒增殖的组织与细胞，是否进入血循环及最终增殖并致病变的靶器官（组织与细胞）。如病毒仅局限在入侵部位增殖并导致疾病，引起的是局部感染。例如鼻病毒仅在上呼吸道粘膜

细胞内增殖，引起普通感冒；轮状病毒在肠道粘膜内增殖而引起腹泻。

多数病毒经一定途径感染机体后，常在另一种组织或细胞内增殖后，病毒释放入血循环或经淋巴系统或经神经组织，再入侵靶器官中的易感细胞，在该细胞中增殖，损伤细胞并引起疾病。这种感染过程涉及全身或数种组织与器官，引起的是全身性感染。如麻疹病毒经呼吸道入侵人体后先在粘膜上皮细胞中增殖，以后进入血流在其中的淋巴细胞和巨噬细胞中增殖，并随之散布到淋巴组织等细胞内增殖，在其中大量增殖后再次入血，并随血流播散到全身的皮肤粘膜、口腔、呼吸道及淋巴组织。由于病毒可在毛细血管内皮组织中增殖，在机体的抗体参与下形成皮疹。约1/1000患者中麻疹病毒还可侵入脑组织。各种病毒在体内的感染过程与结局反映了病毒对一种或多种细胞的嗜性及细胞作为对该种病毒的容许性细胞，供病毒在其中增殖并释放出有感染性的大量病毒体。一般全身性感染较局部感染会诱生更全面及巩固的免疫应答。

感染的过程与结局取决于病毒与机体间相互的作用。机体的遗传特性及天然和获得性免疫应答均将影响感染的结局。例如病毒是否会完成全部感染过程造成严重损伤，甚至致感染者死亡；还是仅出现隐性感染或使感染中止成为顿挫型感染，或感染者最终清除病毒而恢复健康，均由病毒与机体两方面因素所决定。然而大多数病毒感染的嗜组织性及在体内播散等机制至今尚未能阐明。

（三）动物模型　为研究和阐明病毒感染的机制，动物模型是不可缺少和替代的工具。最为理想的动物模型是完全能模拟人体的感染过程，如黑猩猩可感染人乙型和丙型肝炎病毒。但即使灵长类动物（黑猩猩、猴等）也难以重复出与人感染相同的过程。其次则是有些病毒可以用实验方法感染动物，如流行性乙型脑炎病毒经脑内注射小鼠，可发生脑炎。第三种动物模型是应用在动物中存在与人相同病毒科的病毒感染，如猴免疫缺陷病毒与人类免疫缺陷病毒均属逆转录病毒科但并非同种病毒，前者可在猴引起类似人的艾滋病，也可作为模型。第四种动物模型则为转基因动物模型。通过将某一种病毒的部分或全部基因克隆入质粒，注入鼠受精卵后，转入鼠宫腔，娩出鼠可获得表达病毒抗原或甚至有病毒复制的转基因鼠，也可用以在整体水平研究病毒的感染与致病机制。

二、细胞水平的病毒感染

病毒感染人体进入易感细胞在细胞内增殖，导致细胞损伤或产生其他变化。当病毒扩散至多数细胞后则可形成对组织器官的损伤或功能障碍。对细胞水平的病毒感染分析，多数是通过将病毒接种培养的细胞，观察细胞形态学变化并研究细胞新陈代谢及抗原性的改变。从机体的病变组织采取标本，作超微结构观察，也可了解病毒感染对细胞的作用。自从发展分子生物学技术后，用原位核酸分子杂交或提取组织细胞的核酸研究病毒基因在其中的存在状态也可阐明病毒与被感染细胞的相互作用。

溶细胞型感染　病毒在宿主细胞内复制成熟后，在很短时间内一次释放大量子代病毒，细胞被裂解而死亡。主要见于无包膜、杀伤性强的病毒，如脊髓灰质炎病毒。病毒在增殖过程中不仅可阻断细胞的核酸与蛋白质的合成，使细胞的新陈代谢功能紊乱造成

细胞病变或死亡。病毒感染还常引起细胞溶酶体膜的通透性增高，释放其中的水解酶引起细胞自溶。发生溶细胞型感染的病毒多数引起急性感染。

稳定状态感染 有包膜的病毒（如流感病毒、疱疹病毒等）以出芽方式释放子代病毒，因其过程相对缓慢，所致病变相对也较轻，因此细胞在短时间内并不立即被溶解与死亡。由于这类病毒感染常是以出芽方式释放子代病毒，细胞膜常发生一定的变化。例如在细胞膜表面出现嵌合有病毒特异抗原的蛋白成分，因这些病毒抗原具有抗原性，可被机体的特异抗体或杀伤性 T 细胞（CTL）所识别。如果细胞膜表面的病毒蛋白具有融合膜的生物活性时，数个细胞间的细胞膜可互相融合而形成多核巨细胞，具有病理学特征。如麻疹病毒引起的肺炎，在肺部可出现融合的多核巨细胞，有诊断价值。受病毒感染的细胞经过不断大量释放子代病毒后以及在机体的免疫因子介导下，细胞最终仍不免死亡。

细胞凋亡 细胞凋亡是由宿主细胞基因所指令发生的一种生物学过程。当细胞受到诱导因子作用激发并将信号传导入细胞内部，细胞的死亡基因被激活后，细胞膜出现鼓泡、细胞核浓缩、染色体 DNA 被降解，在凝胶电泳时出现阶梯式的 DNA 条带。已证实在有些病毒感染细胞后（如人类免疫缺陷病毒、腺病毒等）或直接由感染病毒本身，或由病毒编码蛋白间接地作为诱导因子可引发细胞凋亡。了解这种造成细胞死亡的机制，对指导研究如何阻断或减少病毒致细胞死亡的损伤作用有重要价值。

细胞增生与细胞转化 有少数病毒感染细胞后不仅不抑制细胞 DNA 的合成，反而促进细胞的 DNA 合成。引起动物肿瘤的 SV_{40}病毒即为这些病毒的代表。发现 SV_{40}病毒编码的一种蛋白（T 蛋白）可以与细胞的 DNA 复制起始点及细胞的 DNA 多聚酶结合，从而可以促进细胞的增生。在小鼠中，注射 SV_{40}病毒可使动物发生肿瘤。在鼠成纤维细胞培养中这类病毒均可致细胞转化，即细胞形态发生变化（由成纤维细胞形态转变为上皮样细胞形态），细胞繁殖增快，失去细胞间的接触抑制，呈成堆生长等特点。虽然这些现象的机制尚不清楚，但开辟了研究病毒致肿瘤的切入点。

病毒基因的整合 从基因水平研究发现，病毒基因整合入宿主细胞可有两种方式。一种是逆转录病毒复制过程中以双链 DNA 整合入细胞染色体 DNA 的阶段；另一种整合称为失常式整合（aberration），主要见于 DNA 病毒，即病毒感染细胞后，病毒的 DNA 在细胞核内可偶然地以部分病毒基因片段与细胞的染色体 DNA 随机地进行重组，从而使整合的病毒 DNA 随细胞分裂而带入子细胞中。如 SV_{40}病毒 DNA 即可整合入细胞 DNA。如果整合的片段编码 T 蛋白，即可持续地表达 T 蛋白并长期致细胞转化。如果病毒基因整合入细胞染色体部位或附近有抑癌或癌基因存在，则细胞可发生与肿瘤相关的一系列的变化。

三、病毒感染对免疫系统的作用

免疫系统在体内呈免疫网络作用。免疫细胞应答、免疫细胞间的相互作用、细胞因子与抗体应答均可因病毒感染而影响其正常功能。最常见的现象是病毒感染致机体的免疫应答性降低，如早已发现麻疹患儿对结核菌素皮肤试验应答低下或由阳性转为阴性。

免疫应答低下与病毒侵犯免疫细胞有关。有的病毒如麻疹病毒可侵入巨噬细胞，T、B细胞，并可致淋巴组织中出现多核巨细胞。EB病毒可侵入单核细胞，不仅使细胞形态发生变化，细胞数也显著增多，在临床上发生传染性单核细胞增多症。然而也有许多病毒（如巨细胞病毒、风疹病毒、丙型肝炎病毒等）可侵犯巨噬细胞及淋巴细胞后在其中潜伏存在，并不引起病变或仅影响细胞的功能，但在一定条件下病毒可被激活而复制。人类免疫缺陷病毒侵犯巨噬细胞及T辅助性细胞（$CD4^+$）后，经过多种机制可使T辅助性细胞数量大量减少而发生艾滋病。由于机体细胞免疫功能低下，极易合并条件致病性微生物的感染。病毒入侵免疫细胞后，不仅因影响机体的免疫功能（如吞噬功能降低、抗体产生低下等），致难以清除病毒，还可在这些细胞中逃避抗体、补体等作用而受到保护，并可随免疫细胞播散至体内其他脏器。

病毒感染免疫系统后还可致免疫应答功能紊乱。主要表现为失去区别对自身与非自身抗原的识别功能，而产生对自身细胞或组织的细胞免疫或抗体，可发展为自身免疫病。这类患者常经历过病毒感染或伴有病毒持续性感染，并可检测到对自身组织（如肝细胞膜抗原、脑组织髓鞘抗原）的抗体或细胞免疫应答。

第二节　抗病毒免疫

机体抗病毒免疫应答可分为天然的非特异性免疫及获得的特异性免疫两方面阐述，但在体内这两方面是不可分割并协同发挥作用。

一、干扰素与NK细胞

非特异性抗病毒免疫中除与抗其他微生物相同的机制外，干扰素与自然杀伤细胞（NK细胞）占有突出的地位。机体对病毒入侵细胞的最早应答是诱生干扰素以及出现对病毒感染细胞的杀伤作用。

干扰素　干扰素是1957年Isaac等在深入研究灭活病毒可以干扰活病毒这一现象时，发现的一种由细胞产生的具有抗病毒活性的糖蛋白。除病毒外，细菌内毒素、人工合成的双链RNA也可诱导细胞产生干扰素。巨噬细胞、淋巴细胞及体细胞均可产生干扰素。干扰素具有广谱抗病毒活性，但只具有抑制病毒作用而无杀灭病毒的作用。干扰素抗病毒作用有相对的种属特异性，一般在同种细胞中的活性最高。以后发现干扰素还有调节免疫功能和抑制肿瘤细胞生长的作用。

由人类细胞诱生的干扰素，根据其不同抗原性可分为α、β和γ三种。每种又根据其氨基酸序列不同再分为若干亚型。α干扰素主要由人白细胞产生，β干扰素主要由人成纤维细胞产生，抗病毒作用较免疫调节作用强。γ干扰素由T细胞产生，是重要的细胞因子，其免疫调节作用比抗病毒作用强。目前三种干扰素都已有基因工程产品。

干扰素分子量小，4℃可保存较长时间，-20℃可长期保存活性、56℃被灭活，可被蛋白酶破坏。干扰素不能直接抗病毒而必须经宿主细胞介导。α/β干扰素作用于细胞的干扰素受体后，经信号传导等一系列生化过程，使细胞合成了数种抗病毒蛋白。其中

主要包括2'-5'腺嘌呤核苷合成酶（2'-5'A 合成酶）、磷酸二酯酶及蛋白激酶。这些酶通过降解 mRNA，抑制多肽链的延伸和抑制转译等环节阻断病毒蛋白的合成而起抗病毒的作用。α/β 干扰素可以活化巨噬细胞及 NK 细胞等，相互配合发挥作用。α/β 干扰素可促进多数细胞 MHC I 类抗原表达，有利于杀伤性 T 细胞（CTL）发挥作用。细胞对 γ 干扰素与对 α、β 干扰素有不同的受体。在发挥抗病毒作用之外，γ 干扰素作为一种细胞因子还可诱导多种细胞的 MHC Ⅱ类抗原表达，使之参加抗原递呈和特异性免疫的识别。γ 干扰素还可促进巨噬细胞表达 Fc 受体，协同诱导肿瘤坏死因子，促进巨噬细胞发挥抗病毒作用。

近年来发现妊娠初期母体分泌的滋养层蛋白也属干扰素家族，并且参与生殖内分泌调节。由于干扰素系统在脊椎动物内普遍存在，对其本质及作用的认识还在不断扩大之中。

NK 细胞　最早在研究肿瘤细胞被杀伤的实验中发现了 NK 细胞，但以后发现 NK 细胞也可杀伤病毒感染的细胞。NK 细胞是一种不受 MHC 限制，也不依赖抗体的具有杀伤作用的免疫细胞。NK 细胞可通过多种途径被活化，如膜表面的 CD2、CD3 分子和多种细胞因子，其中以受干扰素的激活在抗病毒免疫中尤为有意义。病毒感染细胞后，细胞膜发生了变化，成为 NK 细胞识别的"靶"，但其具体识别机制尚未阐明。NK 细胞作用于靶细胞后杀伤作用出现早，一般在体外 1h，体内 4h 即可出现杀伤效应。NK 细胞除可杀伤病毒感染的细胞外，肿瘤细胞和某些自身组织细胞也是 NK 细胞的靶细胞。NK 细胞识别靶细胞是非特异性的，即无对某一病毒的特异识别作用，而是普遍地

（一）病毒抗原的加工与递呈 一般将抗原加工与递呈分为 MHCⅠ类分子限制的抗原递呈与 MHCⅡ类分子限制的抗原递呈。病毒感染细胞后，由病毒核酸指令在宿主细胞内合成病毒蛋白。合成的蛋白除装配病毒外，蛋白可经细胞器中的蛋白酶体降解成短肽，被 MHCⅠ类分子选择结合后，在细胞膜表面递呈。这种方式递呈的病毒抗原又称为内源性抗原递呈，与 $CD8^+$T 细胞作用，诱生 CTL 功能。CTL 被认为是清除病毒感染的主要机制。MHCⅡ类分子限制的抗原递呈又称为外源性抗原递呈。当病毒通过胞饮或被吞噬而进入细胞后，经吞噬体内酶水解为小片段的肽后，由 MHCⅡ类分子选择结合后在细胞表面表达而与 $CD4^+$T 细胞相互作用，诱生 T 细胞释放 IFN-γ，TNF-α，IL-2 等细胞因子，并可辅助 B 细胞成熟为浆细胞及合成抗体。现已发现在抗病毒免疫中这种类型的抗原递呈随病毒种类不同而分别或同时存在。多数病毒经抗原递呈后可诱生 CTL 应答，但在流感病毒、乙型肝炎病毒感染中，两种类型可以并存。病毒在细胞内复制故主要为内源性抗原递呈；然而当感染细胞被杀伤后，病毒体或病毒抗原被释放，又可被吞饮而以外源性抗原方式递呈。$CD4^+$T 细胞释放的细胞因子又可激活 $CD8^+$T 细胞，因此两种抗原递呈形成交叉，在抗病毒免疫中可以互补。

（二）体液免疫作用 病毒的抗体可自感染者血清中检出，因此较早被发现并进行了较深入的研究。病毒感染后最先出现的是 IgM 类特异抗体，一般在感染后 2～3d 血清中开始出现。以后则出现 IgG 类抗体，并随不同病毒种类而持续时间长短不等。一般经粘膜感染并在粘膜上皮细胞中复制的病毒在局部可诱生 IgA 类抗体。特异性抗体可用于诊断。在体内，中和抗体的抗病毒作用至为重要。

中和抗体 这种抗体能与病毒结合后消除病毒的感染能力，故在杀灭细胞外的游离病毒中起主要作用。其作用机制是改变病毒表面构型，或与吸附于易感细胞受体的病毒表位结合，阻止病毒吸附并侵入易感细胞和增殖。病毒与中和抗体形成的免疫复合物更容易被巨噬细胞所吞噬、清除或改变抗原递呈途径。有包膜的病毒表面抗原与中和抗体结合后，激活补体，可致病毒裂解。IgG、IgM、IgA 三种不同类型免疫球蛋白的中和抗体具有不同的生物学特性。由于 IgG 分子量小，通过胎盘，新生儿可具有来自母体的中和抗体而得到约 6 个月的被动免疫保护期。IgM 因分子量大，不能通过胎盘。如在新生儿血中测得被动特异性 IgM 抗体，可诊断为宫内感染。病毒感染后最早出现 IgM 抗体，故检查 IgM 抗体可作早期诊断。SIgA 抗体主要来源于粘膜固有层的浆细胞，存在于粘膜分泌液中，在局部免疫中起主要作用，常可阻止病毒的局部粘膜入侵。中和抗体的分子量大，不能进入病毒感染的细胞，故无清除细胞内的病毒的作用。

非中和抗体 有些抗体是针对有包膜病毒的基质或其中的核蛋白，有些抗体是针对病毒表面具有细胞融合功能的酶或病毒复制酶等。因这类抗原与病毒入侵易感细胞不相关，故相应抗体无中和作用，但有时具有诊断价值。病毒抗体的诊断方法随不同病毒而异。

抗体介导对靶细胞的作用 因有包膜的病毒感染细胞后，细胞膜可出现病毒编码的蛋白，能与相应抗体结合，在补体参与下裂解细胞；也可通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用（ADCC）裂解与破坏病毒感染的细胞。在体内，ADCC 的抗病毒作用所占地

位尚未最终确定。

抗体介导促进作用（enhancement） 抗体与某些病毒结合后，可促进病毒在感染细胞中的复制，如登革病毒、呼吸道合胞病毒等。对抗体增强作用的机制还不明确。实验发现 IgG 抗体有促进作用，而 IgM 抗体则无此作用，推测可能当抗体与病毒结合后，更多的病毒进入巨噬细胞而增殖，在细胞表面出现的病毒抗原激发了机体的免疫应答。其中，巨噬细胞释放多种酶（如蛋白激酶、凝血酶等），进一步激活补体和凝血系统，释放血管通透因子而引起一系列病理变化而发生严重疾病。

（三）细胞免疫作用 对细胞内的病毒，机体主要通过 CTL 及 T 细胞释放的淋巴因子发挥抗病毒作用。细胞免疫主要在病毒感染的局部发挥作用，其作用方式为通过免疫细胞接触靶细胞后杀伤靶细胞或在局部释放细胞因子，因此检测细胞免疫的技术较体液免疫为复杂。

杀伤性 T 细胞（CTL） CTL 的杀伤性作用具有病毒特异性，一般出现于病毒感染后 7d 左右。当 CTL 活性开始表现则 NK 细胞活性逐步降低。CTL 接触病毒感染的细胞后，特异地识别与 MHC 分子结合靶细胞表面的病毒抗原特异肽段。在识别中还有一些附加因子如 CD3、CD2 和一些粘附分子等。CTL 接触靶细胞后被激活并释放穿孔素及细胞毒素，穿孔素是一组酶的统称，其作用类似补体的 C9，致靶细胞出现许多小孔。细胞毒素可激活靶细胞内的一些酶、细胞，或自身裂解，或发生凋亡。在多数病毒感染中，因 CTL 可以杀伤靶细胞达到清除或释放在细胞内复制的病毒体，从而在抗体的配合下消除病毒。因此被认为是使病毒感染恢复的主要机制。

辅助性 T（Th）细胞 Th 细胞可以促进 B 细胞生长与分化，并活化 CTL 及巨噬细胞。由于在小鼠中发现有分泌不同细胞因子的 T 细胞类型，对可分泌 IL-2 和 IFN-γ 的 T 细胞称为 Th1 类型，对分泌 IL-4，IL-5 和 IL-10 的 T 细胞称为 Th2 类型。在人类亦有类似的分类，但不如鼠中明确。在病毒感染中已发现当患者的 Th 细胞有上述类型的转换时，病程可以变化，但其机制及意义还有待于对细胞因子在免疫网络中的作用进一步分析后方可阐明。Th 细胞功能低下则可影响机体的抗体产生及 CTL 的作用。

细胞因子 在实验动物及病毒感染者研究中发现，个别病毒感染后虽 CTL 有抗病毒作用，但并未发生靶细胞死亡的现象。这一现象在神经系统病毒感染，以及乙型肝炎病毒持续感染中已被证实，其机制是由于释放 IFN-γ 等细胞因子所致。有人称这一现象为非溶细胞性 T 细胞的作用，即通过 $CD4^+$T 细胞在感染病灶的聚集，受特异的病毒抗原所激活，分泌大量抗病毒因子（IFN、TNF）。这些细胞因子又可进一步激活 T 细胞（CTL，Th 细胞）、巨噬细胞或甚至 NK 细胞，在抑制病毒复制及清除靶细胞内的病毒协同发挥作用。

（四）免疫病理作用 病毒诱生的免疫应答除引起免疫保护作用外，还可引起一定的免疫病理作用。如 CTL 在杀伤病毒感染的靶细胞同时，也造成了细胞损伤，并在感染局部引起炎症反应。抗病毒的抗体如因亲和力低或与抗原的比例不当，可在体内形成抗原抗体复合物的沉积而引起Ⅲ型超敏反应。有些病毒感染者可发生肾小球肾炎等就是因这一免疫病理作用所致，当病毒感染细胞后，因改变了宿主细胞膜的抗原性，或使

“隐蔽抗原表位”的暴露，可诱发自身免疫病。例如慢性肝炎患者中有部分患者存在针对肝细胞蛋白的自身抗原或细胞免疫，在麻疹病毒、腮腺炎病毒感染后期可发生脑炎。由于脑组织中不能分离出病毒，说明发生脑炎的机制并非由病毒复制所造成的损伤，而可能因病毒改变了脑组织抗原或因存在交叉抗原诱生了免疫应答，从而造成脑组织损伤。

（闻玉梅）

第25章　病毒感染的检查方法与防治原则

第一节　病毒的诊断

随着对病毒感染从生物学及分子生物学水平的研究进展，病毒的诊断技术已由传统方法扩展至新的快速诊断技术。病毒感染的快速诊断有利于对病毒感染者的治疗；例如对有些病毒（如疱疹病毒、人类免疫缺陷病毒）感染已有较特异的抗病毒药物治疗。早期诊断及早期治疗对控制病毒感染十分重要。此外，从群体感染角度分析，确诊病毒感染的病原在监测病毒的流行病学（如新型流感病毒、肺出血型汉坦病毒的发现等）方面也有重要的现实意义。

标本的采集与送检　用于分离病毒或检测病毒及其核酸的标本应采集病人急性期标本。根据不同病毒感染采取不同部位的标本（如鼻咽分泌物、脑脊液、粪便或血液）。由于病毒在室温中很易被灭活，应在采集和运送标本中注意冷藏。如欲检测抗体，早期单份血清可用于检测 IgM 抗体，而欲检测早期与恢复期的抗体效价的变化，则需采集早期与恢复期双份血清。血清抗体检测标本应保存于 -20℃。

病毒的分离、培养与鉴定　目前最常用的方法是细胞培养。在注明欲检测的病毒后，病毒分离培养的实验室将选择适当的原代培养细胞（敏感性高）及传代细胞系（便于在实验室保存）作病毒分离培养。接种标本后，细胞可出现病变或也可并不出现病变而需用血细胞吸附等方法检测是否有病毒增殖，并进一步还需用特殊的抗体鉴定病毒的种类，例如用特异荧光抗体染色或抗体中和试验等。当无病毒增殖时，可能标本中病毒含量较低，未被检出，则需要盲目传代3次后方可明确标本中是否存在病毒。这一分离与鉴定病毒的全过程有时可长达2～3个月，而且仅在有设备、实验条件及合格工作人员的实验室方可进行。虽然这种方法所需时间长、步骤多，但在确定病原上是“黄金标准”，即其准确性高而无误。如我国台湾省确定由肠道病毒71型引起多数患儿发生脑膜炎并致死的研究报道，就是由分离培养及鉴定病毒所确诊。如欲提高病毒感染细胞培养的敏感性，可将病毒接种于内有盖玻片的细胞培养瓶，经低温离心后，以增加病毒与细胞接触的几率。再将盖玻片进行培养，并用单克隆抗体染色，藉以通过检测病毒的早期抗原进行诊断。

在流感病毒的分离培养中，最敏感而特异的方法是鸡胚接种，并用血凝和血凝抑制试验以鉴定病毒。此外，细胞培养也可应用。分离流感病毒在发现新变异株中具有重要价值。接种动物分离病毒的方法目前已很少应用，但对狂犬病病毒及乙型脑炎病毒的分离与鉴定中还需应用动物接种，并结合用特异抗体作中和试验或作免疫荧光染色以鉴定病毒种类。

检测病毒抗原及抗体方法　对于一些血清型别不多的病毒或在寻常细胞培养系统中

还不能成功增殖的病毒，直接检测抗原是快速而实用的方法。这一方法要求标本中有一定量的抗原和具备高质量的抗体；其原则为免疫学技术，即用特异标记的抗体检测相应的抗原。可以用免疫荧光或免疫酶标记抗体检测在病毒感染局部脱落细胞或分泌物细胞中的抗原，也可用酶联免疫测定法（ELISA）或乳胶凝集法检测抗原。这一方法在数小时或一天内可获得结果。

用特异的抗原可以检测病毒感染者血清中的 IgM 抗体，以快速诊断病原体。应用的病毒抗原或是利用基因工程表达的重组抗原，也可以是用根据编码基因片段推导的合成肽作为抗原。一般多用 ELISA 法检测。由于 IgM 抗体出现于病毒感染早期，标本采集的时间对这一方法的检测结果影响很大。此外，所用抗原的质量与覆盖抗原表位的幅度也会影响检测结果。用特异抗原也可检测 IgG 类抗体，但 IgG 抗体类型用于临床诊断则必须具有早期与恢复期双份血清，并且抗体的效价需有 4 倍或以上的升高或降低方有诊断价值。在有些病毒感染中，如获得的血清标本已属感染后期，也可在随访中测定抗体效价，如有 4 倍降低，可作出辅助诊断。IgG 抗体的检测在调查某一病毒感染在某些地区人群中的感染率也有价值。此外，还可将病毒蛋白先经凝胶电泳，再转移至膜上，用血清标本与之作用后染色的方法（称 Western 印迹法、免疫印迹法或蛋白印迹法）检测血清中针对某种病毒抗原亚单位的抗体。例如这一方法已用于确诊病人所产生的 HIV 抗体等。

需提高机体的免疫应答，促进消灭病毒感染细胞。

抗病毒药物或制剂 由于病毒必须进入宿主细胞内复制方显示其生命活性，因此设计抗病毒药物或制剂的策略基本上可分别从病毒感染细胞的吸附、穿入及脱衣壳、病毒核酸复制及装配与释放等不同环节设计不同药物。虽然对 HIV、鼻病毒等已明确其靶细胞表面的受体为 CD4 及粘附分子 ICAM-1，但用重组表达的可溶性 CD4 并不能有效地抑制 HIV 复制；模拟 ICAM-1 的抗病毒制剂尚未用于临床研究。20 世纪 60 年代已发现金刚烷胺（amantadine）可抑制甲型流感病毒脱衣壳，并已用于临床研究，发现有一定的预防作用，但因副作用较大，也未被临床广泛采用。

对抑制病毒基因复制、转录及转译的药物和制剂是开发抗病毒药物的热点，并已取得较好的效果。

1. 核苷类药物 核苷类化合物是最早用于临床的抗病毒药物。设计的策略是用合成的异常嘧啶取代病毒 DNA 前体的胸腺嘧啶，通过使异常嘧啶在病毒 DNA 分子合成时掺入子代 DNA 中，阻抑子代病毒结构基因的合成与表达，从而抑制病毒复制或复制出失去感染性的病毒。如目前常用于眼疱疹病毒感染的碘尿苷（IDU，商品名疱疹净）即为此类药物。核苷类药物除可作用于病毒的 DNA，同时也可掺入细胞的 DNA，阻抑细胞 DNA 的合成，故具有一定的毒性。为此，进而开展了如何较特异地作用于病毒或病毒感染细胞的新一代的系列药物。无环鸟苷（acyclovir，商品名阿昔洛韦）及丙氧鸟苷（ganciclovir，DHPG），就是新一代的核苷类药物。其作用机制是此类药物进入感染细胞后，需经疱疹病毒特异的胸苷激酶磷酸化成三磷酸型后，方可在病毒 DNA 复制中发挥作用。无环鸟苷三磷酸通过与 dGPT 竞争疱疹病毒的 DNA 酶以阻断病毒 DNA 链的复制与延长。由于在正常细胞中无环鸟苷并无作用，仅在有病毒感染细胞方可发挥抗病毒作用，对病毒复制有高度选择性，对宿主细胞 DNA 的合成很少影响，不仅提高了疗效还可降低副作用。经测定，无环鸟苷抑制单纯疱疹病毒Ⅰ型复制与抑制宿主细胞生长的浓度相差约 3000 倍。因此除用于局部外，还可注射；可减少疱疹病毒脑炎的死亡率并延长病人生命。DHPG 虽对病毒的治疗效果比无环鸟苷增强 100 倍，但其毒性也较高。因此核苷类药物治疗剂的研制主要关键是提高对病毒感染细胞作用的特异性。

在对逆转录病毒 HIV 的研究中，进行了对逆转录过程中核苷类药物研究。曾先后研制出不同结构的二脱氧胸腺嘧啶核苷类药物，如2'、3' 二脱氧嘧啶核苷（ddt），2'、3' 二脱氧次黄嘌呤核苷（ggI）等。它们可模拟天然的二脱氧核苷底物，经过一系列磷酸化后，作为类似的底物竞争并抑制病毒的逆转录酶。三磷酸化的 3' -叠氮-2'、3' 二脱氧胸腺嘧啶核苷（AZT）早在 1987 年已被批准用于 HIV 感染者。因 AZT 对病毒逆转录酶的抑制比对细胞 DNA 多聚酶的抑制强 100 倍，且可能 AZT 在某些细胞类型，如 $CD4^+$ T 细胞中可更有效地被磷酸化，故用于 HIV 感染者后，能降低艾滋病的发病与病死率。但是发现治疗后 6 个月，已开始出现耐药毒株。最近，另一种核苷类药物（3TC），在临床应用中也正成功地抑制 HIV 的复制，此外 3-氮唑核苷（ribavarin 商品名病毒唑）也是需在细胞酶作用下磷酸化的药物。单磷酸三氮唑核苷酸与肌苷类似，可使细胞和病毒复制所必须的鸟嘌呤核苷减少，故可抑制多种 RNA 和 DNA 病毒复制。

主要用于 RNA 病毒感染的治疗，但因其对细胞核酸也有抑制作用，故副作用较多。

2．病毒蛋白酶的抑制物 现已发现有些病毒除本身可编码病毒复制或转录后剪接、加工酶外，还具有降解大分子病毒蛋白的酶。因此，已根据病毒蛋白酶的结构进行设计并研制病毒蛋白酶的抑制剂。所用方法均是对基因工程表达病毒蛋白酶的结晶用 X 线衍射技术，和用电脑模拟技术，寻找酶的活性位点。在 HIV 中已设计出针对逆转录酶及蛋白酶活性位点的抑制剂，经细胞中核实确有抑制病毒蛋白酶的作用后，已开发出药品，并已获准进行临床试验。其商品名称分别为 indinavir 及 ritonavir。华裔美国科学家用 3TC 加蛋白酶抑制剂联合治疗 HIV，被称为“鸡尾酒”治疗方案，可较长期抑制病毒复制，受到普遍重视。

3．其他 干扰素或干扰素诱生剂以及细胞因子 IL-12，TNF 和一批中草药等天然药物如黄芪、板蓝根、大青叶等也具有抑制病毒复制作用。

4．抗病毒基因治疗 1978 年有学者根据病毒基因组设计了部分能特异地与其互补的寡核苷酸（又称反义 RNA 或 asON），在体外发现可有效地抑制 Rous 肉瘤中病毒的复制。现已发展有反义寡核脱氧核酸（asODN）、反义寡核苷酸（asON）、核酶（ribozyme）等不同类型的各种制剂。发展这类制剂首先需选择病毒基因组中的靶基因，然后设计互补的 DNA 序列片段，一般为 15～30 个聚寡核苷酸。通过 asODN 与病毒的关键基因结合后，可阻抑病毒 DNA 的复制与 RNA 的转录。对 RNA 病毒 asON 是通过与靶基因的 mRNA 互补结合后，阻碍病毒 mRNA 与核糖体结合而阻抑转译病毒蛋白。此外，反义 RNA 与病毒 mRNA 结合形成的二聚体，因对核酸酶敏感而迅速被降解，还间接阻断了病毒蛋白质的合成。在反义 RNA 基础上发展的核酶是在设计序列时使其具有双重特性，一方面通过互补序列与靶 RNA 结合，另一方面设计核酶的序列具有酶的活性，可通过特异的位点切割和降解靶 RNA。这类抗病毒制剂的主要问题是，合成反义 RNA 或 DNA、核酶等所需成本费较高；制剂不稳定易被核酸酶降解以及如何使制剂能有效地到达靶细胞内的病毒基因。迄今，被批准进入临床研究的只有针对抗巨细胞病毒的反义核酸，局部用于巨细胞病毒感染的脉络膜及视网膜炎。

免疫制剂 鉴于病毒的中和抗体可阻断病毒进入易感细胞，因此抗病毒的特异免疫球蛋白不仅用于预防，也可用于治疗。我国已用针对乙脑病毒包膜抗原的单克隆抗体治疗乙脑患者，有较好疗效。因鼠源单克隆抗体在体内存在时间短，并可能在人体诱生超敏反应，现国内外均致力于使鼠源单克隆抗体人源化，或发展重组表达人源抗病毒的单克隆抗体。治疗性疫苗在病毒治疗中亦被重视，如已在临床研究中应用了单纯疱疹病毒、乙型肝炎病毒及 HIV 的治疗性疫苗。狂犬病疫苗是在感染后潜伏期内注射，也可被视为一种治疗性疫苗。病毒的核酸疫苗除作为预防疫苗外，亦有可供治疗用的潜在价值。

第三节 病毒感染的预防

迄今，对病毒感染的治疗药物效果远不如抗生素等对细菌感染的疗效，因此对病毒

感染的预防显得尤为重要。减毒活疫苗因可在体内增殖诱生免疫应答，接种量与接种次数均较灭活疫苗为少。鉴于病毒必须在细胞内增殖，培养病毒的条件与要求比细菌更为复杂，成本也更昂贵，因此获得减毒活疫苗株，用于预防病毒感染是首选的预防疫苗。但由于在许多种病毒中尚未能获得稳定而有强免疫原性的减毒活毒株，因此至今还有一些病毒疫苗采用灭活病毒。用与人类病毒抗原性有交叉免疫原性的动物病毒也可作为减毒活疫苗，如用牛痘苗预防天花是这类疫苗的典范。近来，国外试图用牛轮状病毒株，我国学者等发展的用羊轮状病毒株与人轮状病毒株杂交的减毒活疫苗均已获准进行现场保护性试验。无论是减毒活疫苗或灭活疫苗，提纯病毒体是重要环节。一般，溶细胞型病毒因裂解细胞后被释放人培养液、纯化手续相对较简单；以出芽方式或以细胞间桥方式释放或播散的病毒，需要除去细胞成分，步骤较复杂。

基因工程疫苗 通过对病毒的分子生物学及分子免疫学的研究，一些病毒保护性抗原表位及其相应的编码基因已被阐明，从而可将保护性抗原编码的基因片段克隆入表达载体，用以转染细胞或真核细胞微生物（如酵母菌）及原核细胞微生物，便于大量制备，但也需经纯化除去细菌或酵母菌成分。虽然在多种病毒中均已开展对重组疫苗的研究，但迄今被广泛应用的只有乙型肝炎重组疫苗。必须指出，成功的重组疫苗产品必须有坚实的病毒学及免疫性的研究基础。重组疫苗表达的是病毒蛋白，本质相当于灭活疫苗，其优缺点也与灭活疫苗相同。

核酸疫苗 包括DNA疫苗和RNA疫苗，是由载体（如质粒DNA）和编码病原体某种抗原的cDNA或mRNA组成。目前研究较多的是DNA疫苗。通过将病毒的核酸疫苗直接注人机体，核酸可进入机体细胞内（尚未确定细胞的种类），表达编码的病毒抗原，与细胞的MHC分子共同递呈后，在辅助因子的协同下诱生机体的细胞免疫（包括Th细胞及CTL）和抗体应答。核酸疫苗的优点为便于制备、贮存与运输，可诱生体液和细胞免疫、免疫应答维持时间持久等。但核酸疫苗在小动物中与大动物中诱生免疫应答效果不完全一致，若用于人体，注射的核酸量极大，且需证明其安全性，如不引起自身免疫应答，不发生病毒核酸基因整合等。由于核酸疫苗可诱生CTL，而CTL被认为是清除病毒的主要机制，因此是一种具有重要发展前景的疫苗。有些病毒的核酸疫苗，在人体已作为预防性疫苗进行了临床研究；在动物模型中已证实核酸疫苗具有治疗效果。

其他类型的疫苗 处于研究阶段的还有模拟病毒表位的合成肽疫苗、抗独特型疫苗、表达多种病毒表位的联合多价疫苗等，但或因免疫原性较低，或还需进行数种表位免疫原性间的干扰或协同作用等研究，目前与发展为成熟产品间尚有一定距离。

我国常用的病毒疫苗及所用疫苗株的来源见表25-1，可见其中多数疫苗毒株系我国自行建立。

因多数病毒可致隐性感染，在人群血清中存在较高效价的多种病毒抗体。因此，人血清免疫球蛋白可用于被动预防甲肝、麻疹、脊髓灰质炎病毒的一种紧急措施。在乙型肝炎中，高效价的含抗乙肝病毒表面抗体的人免疫球蛋白具有被动保护作用，在预防乙型肝炎的母婴传播中可与疫苗联合使用，有显著效果。

表 25-1　我国常用的病毒疫苗

疫苗名称	疫苗种类（培养细胞种类）	毒株来源
脊髓灰质炎疫苗	减毒活疫苗（人二倍体，Vero 细胞）	美国 Sabin Ⅰ，Ⅱ型中$Ⅱ_{17}$，中$Ⅲ_{2}$株
麻疹疫苗	减毒活疫苗（鸡胚细胞）	沪 191、长$_{47}$株
流行性腮腺炎疫苗	减毒活疫苗（鸡胚细胞）	上海 S_{79}株
风疹疫苗	减毒活疫苗（人二倍体细胞）	北京 BRDⅡ株
甲型肝炎疫苗	减毒活疫苗（人二倍体细胞）	杭州 H_2 株，上海-长春 L-A-1 株
人用狂犬病疫苗	灭活疫苗（地鼠肾细胞）	北京 aG 株
乙型脑炎疫苗	灭活疫苗（地鼠肾细胞）	北京 P_3 株
森林脑炎疫苗	灭活疫苗（地鼠肾细胞）	森长株
乙型肝炎疫苗	基因工程疫苗（酵母菌表达）	由美 Merck 公司引进

（阎玉梅）

第26章 呼吸道病毒

呼吸道病毒是指一大类能侵犯呼吸道引起呼吸道局部病变或仅以呼吸道为侵入门户，主要引起呼吸道外组织器官病变的病毒。呼吸道病毒包括正粘病毒科（Orthomyxoviridae）中的流感病毒；副粘病毒科（Paramyxoviridae）中的副流感病毒、呼吸道合胞病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒以及其它病毒科中的一些病毒，如腺病毒、风疹病毒、鼻病毒、冠状病毒和呼肠病毒等。据统计，90%以上急性呼吸道感染由病毒引起。

第一节 流行性感冒病毒

流行性感冒病毒（influenza virus，简称流感病毒）有甲（A）乙（B）丙（C）三型，引起人和动物（猪、马、海洋哺乳动物和禽类等）流行性感冒（简称流感）。其中1934年分离出的甲型流感病毒在引起人类流感流行上最为重要，是反复流行最为频繁和引起真正全球流行的重要病原体。其中最著名的是发生于1918～1919年的流感世界大流行，只有澳洲未被波及，世界人口（当时20亿）的50%被感染，死亡人数至少有2000万，高于第一次世界大战死亡总人数。

一、生物学性状

形态与结构 球形或丝状，球形直径80～120nm，新分离株丝状多于球形，丝状有时可达4000nm左右（图26-1）。

流感病毒的核衣壳呈螺旋对称，有包膜，单链分片段RNA病毒（图26-2）。

1. 核心 病毒核酸为分节段的单负链RNA，如甲型、乙型流感病毒分8个片段，1～6片段编码单个蛋白，分别为PB2、PB1、PA、HA、NP和NA；第7和第8个片段都编码2个蛋白，分别为M1、M2和NS1、NS2。这一特点使病毒在复制中易发生基因重组，导致新病毒株的出现。丙型分7个片段。流感病毒基因组总长度为13600个核苷酸，片段长度范围在890～2340。与每个RNA片段结合的有核蛋白（nucleoprotein，NP）和3个与核酸复制和转录有关的依赖RNA的RNA多聚酶蛋白PA、PB1和PB2。RNA和NP合称核糖核蛋白（ribonucleoprotein，RNP），即核衣壳，呈螺旋对称。病毒核蛋白为可溶性抗原，抗原性稳定，未发现变异，具有型特异性。

2. 包膜 流感病毒包膜有两层结构，内层为病毒基因编码的基质蛋白M1，它的存在增加了包膜的硬度和厚度，并可促进病毒装配。M蛋白抗原性稳定，亦具有型特异性。包膜外层为来自宿主细胞的脂质双层膜，甲型和乙型流感病毒包膜上镶嵌有两种

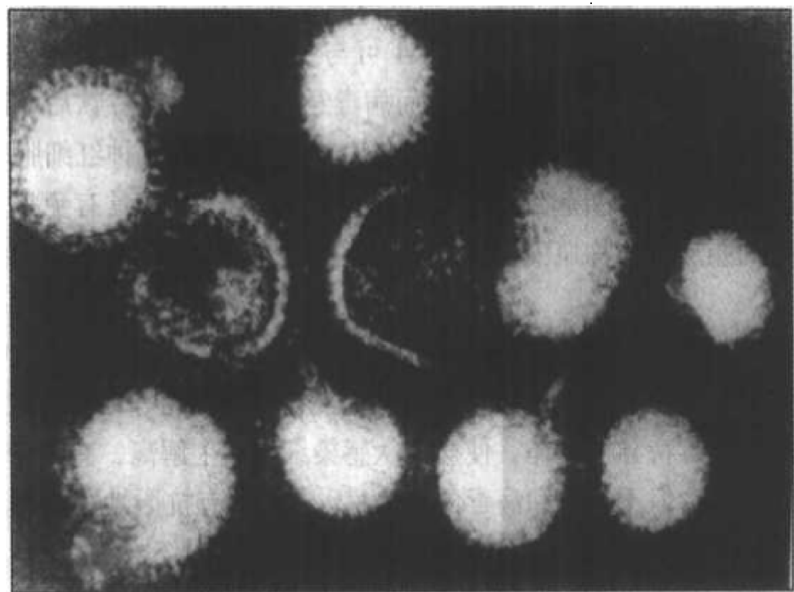


图 26-1 甲型流行性感冒病毒×21400

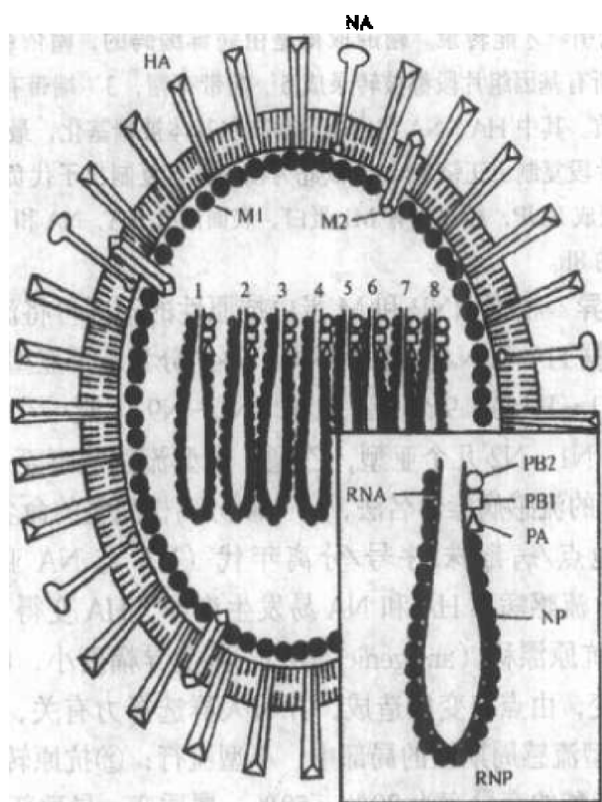


图 26-2 甲型流感病毒结构示意图

由病毒基因编码的糖蛋白刺突：血凝素（hemagglutinin，HA）和神经氨酸酶（neuraminidase，NA），两者数量之比为 5：1。它们是划分流感病毒亚型的依据，抗原性极易变异。

（1）HA：占病毒蛋白的 25%，与病毒吸附和穿入宿主细胞有关。呈柱状，为三聚

体，每个单体的原始肽链 HA0 必需经细胞蛋白酶裂解活化，形成二硫键连接的 HA1 和 HA2 两个亚单位，病毒才具有感染性。HA1 可与上皮细胞表面寡聚糖末端的唾液酸受体结合；HA2 疏水端具有膜融合活性，因而病毒经 HA1 吸附被吞饮后，HA2 可促进病毒包膜与内体膜的融合释放核衣壳。HA 能与人、鸡、豚鼠等多种红细胞表面 N-乙酰神经氨酸（唾液酸）受体结合引起红细胞凝集（简称血凝）。HA 具有免疫原性，为保护性抗原，其诱导的相应抗体称血凝抑制抗体，能抑制血凝现象和中和病毒感染性，为保护性抗体。

(2) **NA**：由四个亚单位组成的四聚体，呈蘑菇状，头部含有酶活性中心和四个抗原位点。酶活性作用于宿主细胞表面糖蛋白末端神经氨酸与相邻糖基的联结链，使其断裂，破坏细胞膜上病毒特异性受体，使病毒从感染细胞膜上解离，有利于成熟病毒的释放和集聚病毒的扩散。但不能中和病毒的感染性。NA 具有抗原性，其相应抗体能抑制酶的水解作用。

病毒复制　病毒经 HA 首先吸附到细胞表面糖蛋白末端神经氨酸上，细胞通过吞饮使病毒进入内体、通过 HA2 的作用和 M2 的酸化作用，病毒包膜与内体膜发生融合，病毒脱壳，RNP 移行至细胞核。在病毒多聚酶作用下，转录 mRNA。流感病毒 mRNA 转录的特点是需要宿主 mRNA5’端甲基化的帽（m7GpppXm）作为引物才能转录。帽的取得是由病毒编码的，帽依赖的 RNA 酶从宿主细胞 mRNA 上切取获得的。所有基因组片段都被转录成 5’端带有帽，3’端带有 polyA 尾的 mRNA 进入胞浆，转译成病毒蛋白质。其中 HA、NA 在内质网和高尔基体被糖基化，最后被运送到细胞膜表面。随后，在核内每个基因片段复制出正链 RNA，以此为模板，再复制出子代负链 RNA，进入胞浆，与多聚酶和 NP 结合，装配成 RNP，经内衬有 M1 蛋白、表面嵌有 HA、NA 和 M2 蛋白的细胞膜部位出芽释放。一个复制周期约 8h。

分型、命名与变异　根据 RNP 和 M 蛋白抗原性的不同可将流感病毒分为甲、乙、丙三型；甲型又可根据 HA 和 NA 抗原性不同，再区分为若干亚型，目前从禽类已鉴定出 15 个 HA 亚型（H1～H15），9 个 NA 亚型（N1～N9）。近一个世纪，在人间流行的只有 H1、H2、H3 和 N1、N2 几个亚型，乙型、丙型流感病毒至今尚未发现亚型。根据 1980 年 WHO 公布的流感病毒命名法，一个新分离株完整的命名应包括：型别/宿主（人则省略）/分离地点/病毒株/序号/分离年代（HA 与 NA 亚型号），如 A/Hong Kong/1/68（H3N2）。流感病毒 HA 和 NA 易发生变异，HA 变得更快。流感病毒抗原变异有两种形式：①抗原漂移（antigenic drift），其变异幅度小，HA、NA 氨基酸的变异率小于 1%，属量变，由点突变所造成，并与人群选择力有关，每 2～5 年出现一个新的变异株，引起甲型流感周期性的局部中、小型流行；②抗原转换（antigenic shift），变异幅度大，HA 氨基酸的变异率为 20%～50%，属质变，导致新亚型的出现。由于人群完全失去免疫力，每次新亚型出现都曾引起世界性的流感暴发流行，随后该亚型进入抗原漂移阶段，直至新亚型出现才终止流行。

近一个世纪，甲型流感病毒已经历过数次重大变异（表 26-1）。

表 26-1 甲型流感病毒抗原转换引起的世界性流行

流行年代	亚型类别	代表株
1918	Hsw1N1	可能为猪流感病毒
1947	H1N1（亚甲型）	A/FM/1/47
1957	H2N2（亚洲甲型）	A/Singapore/1/57
1968	H3N2（香港甲型）	A/HongKong/1/68
1977	H1N1 H3N2	

1977年，H1N1又重新出现，感染者无一不是30岁以下青年人，表明过去的感染具有保护作用。与以前新亚型出现不一样，这次H1N1没有完全取代H3N2，而是与其共同流行。1998年由于甲3亚型（A3，H3N2）国际代表株发生变异，由武汉株变为悉尼株，人群普遍对该株缺乏免疫力，造成该株在亚洲部分地区和次年在西欧等地区的暴发流行。乙型流感病毒无抗原转换的变异。

种系变异的研究表明，所有哺乳动物的流感病毒均来源于禽类（如鸭）。而猪和某些哺乳动物在新亚型的出现中起关键作用，猪对人、哺乳动物和禽类流感病毒均敏感，这给各种亚型流感病毒在猪中进行基因重组创造了条件。HA受体的研究表明，不同HA亚型唾液酸受体的氨基酸残基在不同宿主中不同。大多数禽类、马流感病毒HA与SA-α-2、3-Gal-β1、4-Glu（唾液酸-α-2、3-半乳糖-β1、4-葡萄糖）受体结合，人流感病毒与SA-α-2、6-Gal-β1、4-Glu受体结合。人气管上皮细胞带有SA-α-2、6-Gal，鸭肠上皮细胞（禽流感病毒增殖处）和马气管上皮细胞带有SA-α-2、3-Gal，而猪气管上皮细胞两种类型的SA都有。猪自然感染或实验性感染禽类、人类甲型、丙型流感病毒都已得到证明。因此抗原转换可以是人流感病毒与动物流感病毒的基因重组；也可以是动物、禽类流感病毒之间的基因重组，产生了对人的致病性，由动物、禽类直接传给人。回顾性血清学调查表明，1918年流行的流感病毒与猪流感H1N1相关。另有记载表明在人流感暴发流行之前有马、鸽流感的暴发。1997年，香港发生禽流感，为H5N1，波及大批鸡群，同时发生20例禽流感病人，死亡6例。虽H5毒株不能在人间直接传播，但感染的鸡经鸭可传给猪，在猪中进行病毒重组则可传给人，再引起人间流行。

关于流感大流行的起源，还有一种理论认为是旧毒株的重现。研究表明早在1946年左右在人群中消失的原甲型（H0N1，代表株A/PR/8/34），在我国人群中仍有活动。

培养特性 流感病毒可在鸡胚和培养细胞中增殖。初次分离接种羊膜腔阳性率较高，传代适应后可移种于尿囊腔。细胞培养一般可用原代猴肾细胞（PMK）或狗肾传代细胞（MDCK）。在培养液中加入胰酶，促使HA裂解，可扩大培养细胞范围。病毒在鸡胚和细胞中均不引起明显的病变，需用红细胞凝集试验或红细胞吸附试验以及免疫学方法证实病毒的存在。

抵抗力 不耐热，56℃ 30min被灭活，0～4℃能存活数周，－70℃以下可长期保存；对干燥、紫外线、乙醚、甲醛、乳酸等敏感。

二、致病性与免疫性

病毒经飞沫在人与人之间直接传播，温带冬天为流行季节。传染性强，最严重者可

致病毒性肺炎，但50%感染后无症状。病毒在呼吸道上皮细胞内增殖，引起细胞空泡变性，纤毛丧失最终坏死脱落。潜伏期1～4d，突然发病，有畏寒、发热、头疼、肌痛、厌食、乏力、鼻塞、流涕、咽痛和咳嗽等症状。热度可高达38～40℃，持续1～5d，平均3d。病毒仅在局部增殖，一般不入血。全身症状与病毒感染刺激机体产生的干扰素和免疫细胞释放的细胞因子有关。小儿温度比成人高，可发生抽搐或谵妄；呕吐、腹痛、腹泻较常见。年老体弱、免疫或心肺功能不全者和婴幼儿在感染后5～10d，易发生细菌性继发感染，特别是肺炎，常危及生命。

流感病毒感染可引起针对HA、NA、NP、M1的病毒特异性细胞和体液免疫。特异性的$CD4^+$和$CD8^+$T细胞可产生广泛的亚型间交叉免疫，决定病毒的清除和疾病的恢复；特异性抗体中只有抗-HA为中和抗体，包括IgG、IgM和SIgA。局部中和抗体SIgA和血清中和抗体在预防感染和阻止疾病发生中有重要作用。血清抗-HA中和抗体可持续几十年，对同型病毒有牢固免疫力；对型内变异株的交叉免疫可持续4～7年，但亚型间无交叉免疫。

三、微生物学检查法

在流感暴发流行时，根据典型症状即可作出临床诊断。实验室检查主要用于鉴别诊断和分型，特别是监测新变异株的出现、预测流行趋势和提出疫苗预防建议。检查方法包括：

1. 病毒分离　取急性期患者咽漱液或鼻咽拭，接种培养细胞或鸡胚。

2. 血清学诊断　如恢复期抗体效价较急性期增高4倍或以上，即有诊断价值。血清学试验包括亚型和株特异的血凝抑制试验和中和试验，型特异的补体结合试验和抗原特异确定的酶免疫测定。血凝抑制试验在流感病毒血清学诊断中最为常用。

3. 用免疫荧光法或酶免疫测定法直接从病人呼吸道分泌物、脱落细胞中检测抗原。

4. 用核酸杂交、PCR或序列分析检测病毒核酸和进行分型测定。

四、防治原则

流行期间应尽量避免人群聚集，公共场所每100m^3空间可用2～4ml乳酸加10倍水混匀，加热熏蒸，能灭活空气中的流感病毒。免疫接种是预防流感最有效的方法，但必须与当前流行株的型别基本相同。

1941年美国首先批准使用鸡胚培养的流感病毒灭活疫苗；目前较多使用的为三价灭活疫苗（甲型2个亚型和1个乙型）。20世纪60年代出现裂解疫苗；70～80年代研制成毒粒亚单位和表面抗原（HA和NA）疫苗，并于1980年在英国首次批准使用。减毒活疫苗迄今仍处于研制阶段。

流感尚无特效疗法，盐酸金刚烷氨及其衍生物甲基金刚烷氨可用于预防甲型流感，其作用机制主要是抑制病毒的穿入和脱壳。此外，干扰素滴鼻及中药板蓝根、大青叶等有一定疗效。

第二节 副粘病毒

副粘病毒与正粘病毒的生物学性状类似，均为核衣壳呈螺旋对称，有包膜的单负链RNA病毒。但有以下几个特点：①病毒体较正粘病毒大，直径150~300nm；②包膜刺突HA和NA与流感病毒不同，副流感病毒和腮腺炎病毒的HA和NA活性集中于同一糖蛋白刺突上，称HN蛋白；麻疹病毒相应的刺突只有HA活性，无NA活性，称H蛋白；呼吸道合胞病毒的刺突G蛋白既无HA活性，又无NA活性。HN、H、G蛋白均与病毒的吸附有关；③具有另一种刺突F蛋白，可促进宿主细胞膜与病毒、细胞与细胞的融合，形成多核巨细胞；④核酸为一条完整的单负链RNA，不分节段，不易发生基因重组和变异；⑤病毒基因组除编码HN（或H或G）、F蛋白外，还编码M、NP、P、L蛋白，呼吸道合胞病毒还有NS1、NS2、M2蛋白等。L蛋白为多聚酶蛋白，P蛋白可与多聚酶形成复合物，参与RNA的合成，NP为核蛋白，M蛋白为基质蛋白，NS为非结构蛋白。

一、麻疹病毒

麻疹病毒（measles virus）是麻疹的病原体。麻疹是儿童时期最为常见的急性传染病，发病率几乎达100%，常因并发症的发生导致死亡。据WHO估计，疫苗前时代，全世界每年大约有1.3亿儿童患病，700~800万儿童死亡。1959年，我国麻疹病例高达900多万，死亡26万。

麻疹病毒只有一个血清型，但20世纪80年代以来，各国都有关于麻疹病毒抗原性变异的报道。核苷酸序列分析表明，麻疹病毒存在着基因漂移。

致病性与免疫性 人是麻疹病毒的自然宿主，急性期患者为传染源，通过飞沫直接或鼻腔分泌物污染玩具、用具等感染易感人群。冬春季发病率最高。潜伏期约10~14d，病毒先在呼吸道上皮细胞内增殖，然后进入血流，出现第一次病毒血症，病毒随血流侵入全身淋巴组织和单核吞噬细胞系统，在其细胞内增殖后，再次入血形成第二次病毒血症，此时眼结膜、口腔粘膜、皮肤、呼吸道、消化道、泌尿道、小血管受染产生病变，表现为细胞融合成多核巨细胞，核内和胞质内形成嗜酸性包涵体等。少数病例病毒尚可侵犯中枢神经系统。CD46为麻疹病毒受体，人红细胞以外的组织细胞大多有CD46。临床表现除高热、畏光、还有鼻炎、眼结膜炎、咳嗽三个主要前驱症状，此时病人传染性最强。发病2d后，口颊粘膜出现Koplik斑，为周围绕有红晕的灰白色小点，对临床早期诊断有一定意义。随后1~2d，全身皮肤相继出现红色斑丘疹，先是颈部，然后为躯干，最后到四肢，出疹期病情最严重。4d后消退、脱屑。麻疹一般可治愈。但患者抵抗力低下，护理不当，死亡率亦可高至25%以上。最严重的并发症为脑炎，发病率为0.5%~1.0%，其中死亡率为5%~30%。最常见的并发症为肺炎，占麻疹死亡率的60%。

亚急性硬化性全脑炎（subacute sclerosing panencephalitis，SSPE）是麻疹晚期神经

中枢系统并发症，发生率为0.6～2.2/10万。从麻疹发展到SSPE平均7年，患者大脑功能发生渐进性衰退，表现为反应迟钝、精神异常，运动障碍，病程6～9个月，最后导致昏迷死亡。SSPE患者血液和脑脊液中有异常高水平的麻疹病毒抗体，但病毒分离困难。现认为患者脑组织中麻疹病毒为缺陷病毒，特别是M基因突变，M蛋白功能异常。

麻疹自然感染后一般免疫力牢固，抗体可持续终生，母亲抗体能保护新生儿。其中抗H抗体和抗F抗体在抵抗麻疹病毒再感染中有重要作用。麻疹的恢复主要靠细胞免疫，T细胞缺陷者会产生麻疹持续感染，导致死亡。但细胞免疫也是引起麻疹出疹、麻疹后脑炎的原因。此外，麻疹感染（包括麻疹减毒活疫苗）还可引起暂时性免疫抑制，如IV型超敏反应、OT试验的阴转和对新抗原免疫应答的减弱。

微生物学检查法　临床诊断一般无需进行实验室检查。病毒分离可采取前驱期呼吸道标本和血液标本接种原代人或猴肾细胞；亦可采取呼吸道、尿沉淀物用免疫荧光法检查病毒抗原、观察多核巨细胞及包涵体；血清学诊断应包括双份血清或检测IgM。此外，亦可进行核酸杂交和PCR。

防治原则　鸡胚细胞麻疹病毒减毒活疫苗是当前最有效疫苗之一。为此，WHO已将消灭麻疹列入继消灭脊髓灰质炎后的主要目标。我国于1958年首次从麻疹病人分离到病原体，1965年制成减毒活疫苗，仅比世界上第一疫苗株晚3年。初次免疫我国定在8月龄，接种后，抗体阳转率达90%以上，但免疫力仅维持10～15年，因此7岁时必须进行再次免疫。自实施常规免疫接种以来，麻疹发病率大幅度下降，全国已降至10/10万左右，有的地区连续多年小于1/10万。

对接触麻疹的易感者，可紧急用丙种球蛋白或胎盘球蛋白进行人工被动免疫，防止

及时隔离患者，防止传播。疫苗接种是惟一有效的预防措施，目前使用的为减毒活疫苗，可产生长期免疫效果。在美国等国家已将腮腺炎病毒、麻疹病毒、风疹病毒组成了三联疫苗（MMR）。我国目前使用的是S97株生产的单价减毒活疫苗，三联疫苗正在研制中。

三、副流感病毒

副流感病毒（parainfluenza virus）为引起轻型流感样症状的呼吸道病毒，但在婴幼儿也可引起严重的下呼吸道感染。有4个血清型。

病毒普遍存在，流行有季节性，通过飞沫或人与人接触传播。初次感染多发生在5岁以下，病毒在上呼吸道上皮细胞内增殖，引起病毒血症。约有25%的病例病毒可扩散到下呼吸道，引起细支气管炎和肺炎，2%～3%可引起严重的哮吼（急性喉气管支气管炎）。2岁以下婴幼儿易引起下呼吸道感染，成人则以上呼吸道感染多见。哮吼常由1型、2型引起，3型引起的下呼吸道感染发病率仅次于呼吸道合胞病毒，4型一般不引起严重疾病。1型和3型亦是医院内感染的重要病原体。保护性免疫包括细胞免疫和SIgA，但持续时间短，再感染常见。

四、呼吸道合胞病毒

呼吸道合胞病毒（respiratory syscytial virus，RSV）是在婴幼儿中引起严重呼吸道感染的最重要的病原因子，典型的是细支气管炎和细支气管肺炎，但在较大儿童和成人主要引起上呼吸道感染。

呼吸道合胞病毒通过手、污染物品和呼吸道传播，每年冬季均有流行，至4岁时，几乎每个人都受过感染。

病毒感染局限于呼吸道，不产生病毒血症。病毒侵入呼吸道上皮细胞内增殖，引起细胞融合。病毒致病机制尚未完全清楚，主要是病理免疫造成细胞损伤。支气管和细支气管坏死物与粘液、纤维蛋白等结集在一起，很易阻塞婴幼儿狭窄的气道，导致严重的细支气管炎和肺炎，造成死亡。呼吸道合胞病毒也是医院内感染的重要病原体。

呼吸道合胞病毒感染后，免疫力不强，自然感染不能防止再感染。母体通过胎盘传给胎儿的抗体亦不能防止婴儿感染。至今未有安全有效的预防疫苗，灭活疫苗接种反而会使感染更加严重。

第三节　其他呼吸道病毒

一、腺　病　毒

腺病毒（adenovirus）1953年分离到，约有100个血清型，其中能感染人类的至少有42个型别，分A～F6个亚组。腺病毒能在呼吸道、肠粘膜上皮细胞中引起溶解性感染；在淋巴样和腺样细胞中引起潜伏感染和在啮齿动物细胞中引起转化感染。

生物学特性　为双链DNA无包膜病毒。核衣壳呈二十面体立体对称，直径70～90nm，12个顶角的五邻体（penton）由基底和一根纤维突起组成，对细胞有毒性（图

26-3)。纤维突起含有病毒吸附蛋白和型特异性抗原，还具有血凝性。其早期基因产物E1A能与抑癌基因P53结合，阻断细胞凋亡，促进细胞转化。

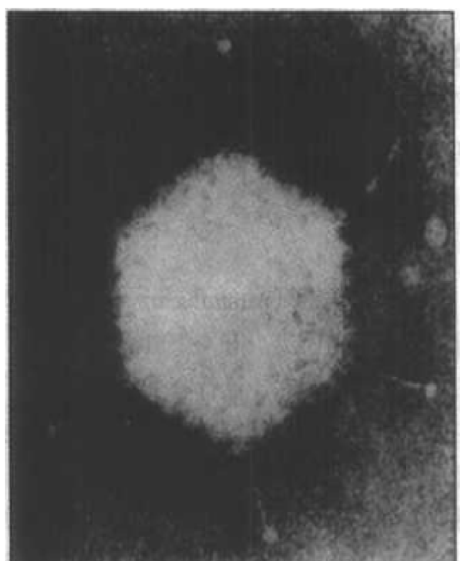


图26-3　腺病毒×500000

致病性与免疫性　主要通过呼吸道、胃肠道和密切接触从人传播到人，可通过手将病毒传播到眼，消毒不充分的游泳池还能引起腺病毒感染的暴发流行。腺病毒主要感染儿童，大多无症状，成人感染不常见。与腺病毒感染相关的临床病症主要是3岁以下小儿的急性咽炎热和较大儿童的咽结膜炎热，多见于暴发流行；急性呼吸道感染和病毒性肺炎；滤泡性结膜炎及与职业有关的流行性角膜结膜炎；胃肠炎与腹泻。15%急性胃肠炎住院病人是由腺病毒引起的。40、41、42三型腺病毒主要引起婴儿腹泻，称肠道腺病毒。此外，还能导致其它一些临床疾病，如小儿的急性出血性膀胱炎。

腺病毒能编码产生几种早期蛋白以逃避宿主的防御机制，这可能与病毒潜在的致癌能力有关，已经证明有少数腺病毒（12、18型等）可引起细胞转化和动物肿瘤。

病后，机体产生的相应抗体对同型病毒具有保护作用。

诊断与防治　常用病毒分离法。取急性期患者咽拭、眼结膜分泌物，接种原代人胚肾细胞后传代HeLa细胞等上皮样细胞，根据细胞肿胀、变圆、聚集成葡萄串状等典型病变再进行鉴定。此外，亦可采用血清学诊断，其它免疫学方法或分子生物学试验进行诊断。

目前尚无理想疫苗。

二、风疹病毒

风疹病毒（rubella virus）分类上属披膜病毒科（Togaviridae），是风疹（又名德国麻疹）的病原体。为单正链RNA病毒，直径约60nm，核衣壳为二十面体对称，有包膜，包膜刺突有血凝性。能在细胞内增殖，1962年首次分离成功。风疹病毒只有一个血清型，人是病毒的惟一自然宿主。

病毒经呼吸道传播，在局部淋巴结增殖后，经病毒血症播散全身。儿童是主要易感者，表现为发热，麻疹样出疹，但较轻，伴耳后和枕下淋巴结肿大。成人感染症状较严重，除出疹外，还有关节炎和关节疼痛，血小板减少，出疹后脑炎等。风疹病毒感染最严重的问题是能垂直传播导致胎儿先天性感染。我国约5%育龄妇女在儿童期未感染过风疹病毒，仍为易感者。孕妇在孕期20周内感染风疹病毒对胎儿危害最大，胎儿细胞的正常生长，有丝分裂和染色体结构可因感染而发生变化，引起胎儿死亡或出生后表现为先天性心脏病、先天性耳聋、白内障等畸形及其它风疹综合征，如黄疸性肝炎，肝肿

大，肺炎，脑膜脑炎等。风疹病毒自然感染后可获得持久免疫力，孕妇血清抗体有保护胎儿免受风疹病毒感染的作用。风疹减毒活疫苗接种是预防风疹的有效措施，常与麻疹、腮腺炎组合成三联疫苗（MMR）使用。我国自己研制的风疹减毒活疫苗 BRDII 免疫原性良好，现已正式投产。

三、鼻病毒、冠状病毒和呼肠病毒

鼻病毒（rhinovirus）　小 RNA 病毒科（Picornaviridae）成员之一，球形，直径 28～30nm，为单正链 RNA 病毒，核衣壳呈二十面体立体对称，无包膜。至少有 100 个血清型。能在人二倍体成纤维细胞中生长，最适温度为 33℃。对酸敏感，pH3.0 迅速失活，该特征能与肠道病毒相区别。

鼻病毒是普通感冒最重要的病原体，引起至少 50%的上呼吸道感染，具有自限性。婴幼儿和有慢性呼吸道疾患者，常导致支气管炎和支气管肺炎。手是最主要的传播媒介，其次为飞沫传播。病毒经鼻、口、眼进人体内，主要在鼻咽腔中复制。早秋和晚春为发病季节。由于病毒型别多和存在抗原漂移现象，鼻病毒的免疫非常短暂，再感染极为常见。干扰素有一定防治作用。

冠状病毒（coronavirus）　大小为 120～160nm，单正链 RNA，核衣壳呈螺旋对称，有包膜，包膜上有排列间隔较宽的突起，使整个病毒颗粒外形如日冕或冠状，故名。常规细胞培养分离病毒困难，最适温度为 33～35℃。

冠状病毒引起 10%～30%普通感冒，其重要性仅次于鼻病毒，居第二位，各年龄组均可发病，婴幼儿为主。冬季为流行高峰，飞沫传播，病毒仅侵犯上呼吸道，引起轻型感染，但可使原有呼吸道感染急性加重，甚至引起肺炎。病后免疫力不强，仅管血清抗体存在，再感染仍可发生。

冠状病毒还与人类腹泻和胃肠炎有关。

呼肠病毒（reovirus）　归属于呼肠病毒科，为双链 RNA，分 10 个节段，双层蛋白质衣壳，呈二十面体立体对称，无包膜。病毒直径 60～80nm，有 3 个血清型。大多数人在儿童期被感染，且多呈亚临床状态。显性感染包括轻度上呼吸道疾病和胃肠道疾病等。

（刘晶星）

第27章 肠道病毒

肠道病毒（enterovirus）归属于小RNA病毒科（Picornaviridae），有67个血清型，分型的主要依据为交叉中和试验。与其在同一科和人类致病有关的病毒还有鼻病毒及甲型肝炎病毒。人类肠道病毒包括：

1. 脊髓灰质炎病毒（poliovirus）有1、2、3三型；

2. 柯萨奇病毒（coxsackievirus）分A、B两组，A组包括1～22，24型；B组包括1～6型；

3. 人肠道致细胞病变孤儿病毒（简称埃可病毒）（enteric cytopathogenic human orphan virus，ECHO）包括1～9，11～27，29～33型。

4. 新肠道病毒，为1969年后陆续分离到的，包括68，69，70和71型。

第一节 脊髓灰质炎病毒

脊髓灰质炎病毒是脊髓灰质炎的病原体。病毒侵犯脊髓前角运动神经细胞，导致弛缓性肢体麻痹，多见于儿童，故脊髓灰质炎亦称小儿麻痹症。

一、生物学性状

球形，直径27nm，核衣壳呈二十面体立体对称，无包膜（图27-1)。基因组为单正链RNA，长约7.4kb，两端为保守的非编码区，在肠道病毒中同源性非常显著，中间为连续开放读框。此外，5’端共价结合一小分子蛋白质Vpg,与病毒RNA合成和基因组装配有关；3’端带有polyA尾，加强了病毒的感染性。病毒RNA为感染性核酸，进人细胞后，可直接起mRNA作用，转译出一个约2200个氨基酸的大分子多聚蛋白(polyprotein)，经酶切后形成病毒结构蛋白VP1～VP4和功能性蛋白。VP1、VP2和VP3均暴露在病毒衣壳的表面，带有中和抗原位点，VP1还与病毒吸附有关；VP4位于衣壳内部，一旦病毒VP1与受体结合后，VP4即被释出，衣壳松动，病毒基因组脱壳穿人。

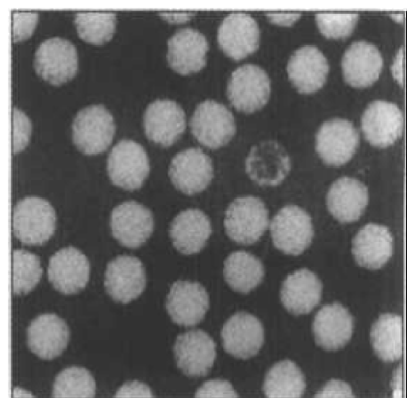


图27-1 Ⅰ型脊髓灰质炎病毒×594000

病毒对理化因素的抵抗力较强，在污水和粪便中可存活数月；在胃肠道能耐受胃

酸、蛋白酶和胆汁的作用；在 pH3～9 时稳定，对热、去污剂均有一定抗性，在室温下可存活数日，但 50℃可迅速破坏病毒，1mol/L $MgCl_2$ 或其它二价阳离子，能显著提高病毒对热的抵抗力。

二、致病性与免疫性

脊髓灰质炎病毒的传染源是患者或无症状带毒者；传播主要通过粪-口途径，病毒以上呼吸道、咽喉和肠道为侵入门户，先在局部粘膜和咽、扁桃体等淋巴组织和肠道集合淋巴结中初步增殖，然后释放入血，形成第一次病毒血症，扩散至带有受体的靶组织。脊髓灰质炎病毒识别的受体为免疫球蛋白超家族的细胞粘附分子，只有很少的组织表达这种受体，如脊髓前角细胞、背根神经节细胞、运动神经元、骨骼肌细胞和淋巴细胞等，因而限制了它的感染范围。在靶组织中再次增殖后，引起第二次病毒血症和临床症状。机体免疫力的强弱显著影响其结局。至少 90%的感染者表现为隐性感染；约 5%产生流产感染。病人只出现发热、头痛、乏力、咽痛和呕吐等非特异性症状，并迅速恢复；在 1%～2%的病人，病毒侵入中枢神经系统和脑膜，产生非麻痹型脊髓灰质炎或无菌性脑膜炎，患者除有上述非特异性症状外，还有颈背强直、肌痉挛等症状。只有 0.1%～2.0%的病人产生最严重的结局，包括暂时性肢体麻痹，永久性弛缓性肢体麻痹，以及极少数患者发展为延髓麻痹，导致呼吸、心脏衰竭而死亡。

由于有效的疫苗预防，脊髓灰质炎病毒野毒株的感染已显著减少，甚至罕见，但疫苗相关麻痹型脊髓灰质炎病例的出现应引起足够的重视。

在保护性免疫中抗体具有重要作用。SIgA 可阻止病毒在咽喉部、肠道内的吸附和初步增殖；血清中和抗体可阻止病毒向靶组织扩散和随后引起的疾病。中和抗体在病毒感染后 2～6 周达高峰，并能持续多年，甚至终生，对同型病毒具有较牢固的免疫力。

三、微生物学检查法

病毒分离与鉴定　粪便标本加抗生素处理后，接种原代猴肾或人胚肾细胞，置 37°C 培养 7～10d，若出现细胞病变，用中和试验进一步鉴定其型别。

血清学试验　用发病早期和恢复期双份血清进行中和试验，若血清抗体有 4 倍或以上增长，则有诊断意义。

此外，用核酸杂交、PCR 等分子生物学方法可检测病毒基因组的存在而进行快速诊断。同时可根据毒株核苷酸组成或序列的差异，或酶切位点的不同等来区别疫苗株与野毒株。

四、防 治 原 则

自从 20 世纪 50 年代中期和 60 年代初期灭活脊髓灰质炎疫苗（IPV，Salk 苗）和口服脊髓灰质炎减毒活疫苗（OPV，Sabin 苗）问世并广泛应用以来，脊髓灰质炎发病率急剧下降，绝大多数发达国家已消灭了脊髓灰质炎野毒株，但在非洲、中东和亚洲发

展中国家仍有野毒株的存在，因此疫苗主动免疫应继续加强，尽早实现 WHO 提出的2000 年在全球消灭脊髓灰质炎的宿愿。

目前，IPV 和 OPV 都是三价混合疫苗（TIPV 或 TOPV），免疫后都可获得抗三个血清型脊髓灰质炎病毒的免疫力。

OPV 口服免疫类似自然感染，既可诱发血清抗体，预防麻痹型脊髓灰质炎的产生，又可刺激肠道局部产生 SIgA，阻止野毒株在肠道的增殖和人群中的流行。此外，服苗后 OPV 在咽部存留 1～2 周，从粪便中排出达数周，因而疫苗病毒的传播使接触者形成间接免疫。我国自 1986 年实行卫生部颁布的 2 月龄开始连服三次 OPV，每次间隔一个月，4 岁时加强一次的免疫程序可保持持久免疫力。

IPV 不能产生肠道局部免疫，接种剂量大，使用不方便，免疫接种面必须广泛等缺点使其在世界范围内很快被 OPV 所代替。事实上 20 世纪 80 年代后期最初的灭活疫苗已改进为抗原性较好的增效 IPV，三剂疫苗接种后，抗三个型别抗体的产生率为99%～100%，也能诱导低水平的粘膜免疫。芬兰、法国、荷兰、挪威、瑞典使用 IPV 后已控制并消灭了脊髓灰质炎，证明了 IPV 的效果。

由于 OPV 热稳定性差，保存、运输、使用要求高，有毒力回复的可能，特别是从 1979 年以来，美国所发生的麻痹型脊髓灰质炎都与疫苗株有关，即所谓疫苗相关麻痹型脊髓灰质炎（VAPP）。因此，新的免疫程序建议是最初两次免疫宜使用 IPV 以排除 VAPP 发生的危险。

第二节　柯萨奇病毒、ECHO 病毒与新肠道病毒

这些病毒的形态结构、生物学性状及感染、免疫过程与脊髓灰质炎病毒相似。柯萨奇病毒、ECHO 病毒识别的受体在组织和细胞中分布广泛，包括中枢神经系统、心、肺、胰、粘膜、皮肤和其它系统，因而引起的疾病谱复杂。致病特点是病毒在肠道中增殖，却很少引起肠道疾病；不同型别的病毒可引起相同的临床综合征，如散发性脊髓灰质炎样的麻痹症、暴发性的脑膜炎、脑炎、发热、皮疹和轻型上呼吸道感染。同一型病毒亦可引起几种不同的临床疾病。但某些病毒只倾向于引起某种综合征的情况也存在，如：

1. 疱疹性咽峡炎　主要由柯萨奇 A 组病毒某些血清型引起，典型的症状是在软颚、悬雍垂周围出现水疱性溃疡损伤。

2. 手足口病　主要由柯萨奇病毒 A16 引起，71 型也引起过多次流行。特点为手足口舌上水疱性损伤。

3. 流行性胸痛　常由柯萨奇 B 组病毒引起，症状为突发性发热和单侧胸痛。

4. 心肌炎和心包炎　主要由柯萨奇 B 组病毒引起。在婴儿室可引起暴发流行，死亡率高。散发流行于成人和儿童。

5. 眼病　见于由 A24 引起的急性结膜炎和 71 型引起的急性出血性结膜炎。

此外，肠道病毒感染可能还与病毒感染后疲劳综合征、糖尿病相关。

除柯萨奇A组病毒等少数几个型别必须在乳鼠中增殖外，其余都能在猴肾原代和传代细胞、某些人源性传代细胞中生长，在细胞质中增殖，产生细胞病变。用病毒特异性组合和单价血清作中和试验进行鉴定。标本包括咽拭、粪便和脑脊液等。目前还无快速简便的其他血清学诊断方法。预防尚无疫苗可用。

（刘晶星）

第28章　急性胃肠炎病毒

胃肠炎是人类最常见的一种疾病，除细菌、寄生虫等病原体外，大多数胃肠炎由病毒引起。这些病毒分别属于四个不同的病毒科：呼肠病毒科的轮状病毒（rotavirus），杯状病毒科（Caliciviridae）的SRSV和'经典'人类杯状病毒；腺病毒科的肠道腺病毒40、41、42和星状病毒科（Astroviridae）的星状病毒（astrovirus）。它们所致的胃肠炎临床表现相似，主要为腹泻与呕吐，但流行方式却明显分为两种：5岁以内的小儿腹泻和与年龄无关的暴发流行。

第一节　轮状病毒

轮状病毒是1973年澳大利亚学者Bishop等在急性非细菌性胃肠炎儿童十二指肠粘膜超薄切片中首次发现，是人类、哺乳动物和鸟类腹泻的重要病原体。

一、生物学性状

形态　为大小不等的球形，直径60～80nm，双层衣壳，无包膜，负染后在电镜下观察，病毒外形呈车轮状，故名（图28-1）。

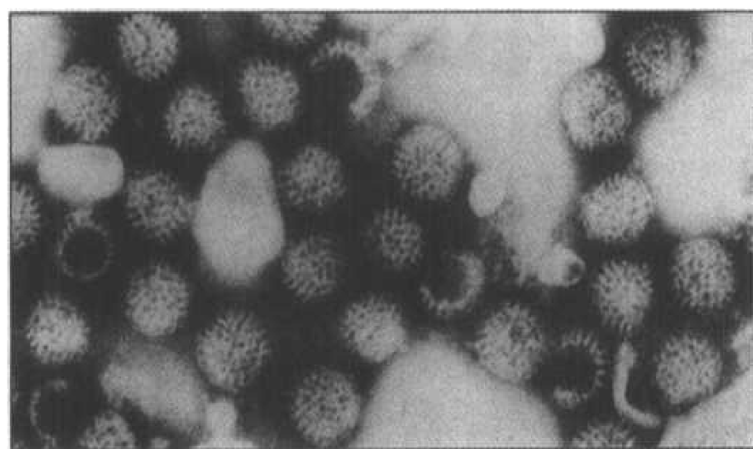


图28-1　轮状病毒×150000

基因组及其编码的蛋白质　为双链RNA病毒，约18550bp，由11个基因节段组成。每个片段含一个开放读框，分别编码6个结构蛋白（VP1、VP2、VP3、VP4、VP6、VP7）和5个非结构蛋白（NSP1～NSP5）。VP6位于内衣壳，为组和亚组特异性抗原；VP4和VP7位于外衣壳，VP7为糖蛋白，是中和抗原，决定病毒血清型，VP4

为病毒的血凝素，亦为重要的中和抗原。VP1～VP3位于核心。

非结构蛋白为病毒酶或调节蛋白，在病毒复制中起主要作用。

分型 根据内衣壳VP6的抗原性，轮状病毒可分为7个组（A～G)。A组轮状病毒根据VP6又分为4个亚组（I、II、I+II、非I非II)。另外A组根据表面中和抗原VP7和VP4分14个G血清型（VP7为糖蛋白）和19个P血清型（VP4为蛋白质)。

抵抗力 在粪便中存活数天到数周。耐乙醚、酸、碱和反复冻融，pH适应范围广(pH3.5～10)。在室温下相对稳定，55℃ 30min可被灭活。

二、致病性和免疫性

轮状病毒呈世界性分布，A～C组轮状病毒能引起人类和动物腹泻，D～G组只引起动物腹泻。A组轮状病毒最为常见，主要流行的血清型为G1P8、G2P4、G3P8和G4P8，是引起6个月～2岁婴幼儿严重胃肠炎的主要病原体，占病毒性胃肠炎的80%以上，是导致婴幼儿死亡的主要原因之一。年长儿童和成人常呈无症状感染。传染源是病人和无症状带毒者，病人每克粪便中排出的病毒体可达10^{10}个，粪-口是主要的传播途径。病毒还可能通过呼吸道传播，从有呼吸道症状儿童的呼吸道分泌物中曾检出轮状病毒的存在，在动物中已证明气溶胶可传播病毒。温带地区晚秋和冬季是疾病发生的主要季节。

病毒侵入人体后在小肠粘膜绒毛细胞内增殖，病毒基因产物VP4为主要致病因子，造成细胞溶解死亡，微绒毛萎缩、变短、脱落；腺窝细胞增生、分泌增多，导致严重腹泻，水和电解质的丧失。潜伏期为24～48h，突然发病，发热、水样腹泻、呕吐和脱水，一般为自限性，可完全恢复。但当婴儿营养不良或已有脱水，若不及时治疗，是导致婴儿死亡的主要原因。

B组病毒可在年长儿童和成人中产生暴发流行，但至今仅在我国有过报道。1982～1983年，该组病毒在我国东北，西北矿区青壮年工人中引发了大规模霍乱样腹泻流行，患者达数十万人。

C组病毒对人的致病性类似A组，但发病率很低。

感染后机体可产生型特异性抗体IgM和IgG，对同型病毒有保护作用，特别是肠道SIgA。对异型只有部分保护作用，细胞免疫亦有交叉保护作用。

三、微生物学检查法

检测病毒或病毒抗原 由于在腹泻高峰时，患者粪便中存在大量病毒颗粒，运用电镜、ELISA或乳胶凝集试验很容易检出病毒或其抗原。轮状病毒有特殊形态结构，应用直接电镜检查，其诊断率达90%～95%。直接或间接ELISA法检测轮状病毒，既可定量亦能进行G、P分型。

分子生物学检测技术 使用聚丙烯酰胺凝胶电泳法，根据A、B、C三组轮状病毒11个基因片段特殊分布图形进行分析判断，在临床诊断和流行病学调查中有重要意义，使用RT-PCR法不仅检测灵敏度高，利用引物设计技术还可进行G、P分型。

细胞培养　轮状病毒可在原代猴肾细胞、传代 MA104 猴肾上皮细胞等中增殖，胰酶预处理病毒可加强其对细胞的感染性。但因病毒培养程序较复杂，不是临床诊断常用方法。

四、防 治 原 则

主要是控制传染源，切断传播途径，严密消毒可能污染的物品。另外，洗手也很重要。治疗主要是及时输液，纠正电解质平衡等支持疗法，以减少婴儿的死亡率。特异性减毒活疫苗正在研究中。大多疫苗来自猴和牛轮状病毒，因它们与人轮状病毒有共同抗原，但对人不致病，故可提供交叉保护，以减轻病情。利用基因重组含有人轮状病毒主要流行血清型的基因片段的疫苗正在进行人群试验，效果与自然感染获得的保护相似，可望获得批准应用。

第二节　肠道腺病毒

肠道腺病毒（enteric adenovirus，EAd）40、41、42 三型已证实是引起婴儿病毒性腹泻的第 2 位病原体。根据 DNA 同源性和血凝格局，它们归属于人类腺病毒 F 组。其形态结构、基因组成、复制特点、致病和免疫与其它腺病毒基本一致，但不易在通常用于分离腺病毒的细胞中增殖；后用腺病毒 5 型 DNA 转染的人胚肾细胞，能持续表达 E1A 和 E1B 的 Graham 细胞才分离成功。我国学者应用 A549 细胞分离 40 型亦获得成功。世界各地均有小儿腺病毒胃肠炎报告，主要经粪-口传播，四季均可发病，以夏季多见。主要侵犯 5 岁以下小儿，引起腹泻，很少有发热或呼吸道症状。

第三节　杯 状 病 毒

引起人类胃肠炎的杯状病毒（calicivirus）包括小圆形结构化病毒（small round structured virus，SRSV）和“典型”杯状病毒（“classic” calicivirus）。SRSV 与其它在肠道中发现的小圆形病毒之间的区别是有明显的表面结构和高低不平的棱（‘ragged’ edge），其原型病毒为 1972 年在美国 Norwalk 一所小学流行性胃肠炎暴发中发现的诺瓦克（Norwalk）病毒。SRSV 病毒成员庞杂，现根据其基因序列，已将 SRSV 分为两个基因组。

“典型”杯状病毒于 1976 年从小儿粪便中发现，属人杯状病毒（HuCV）。其形态特点是其表面有杯状凹陷，棱高低不平。如沿三重对称轴观察时可见中间 1 个，四周 6 个杯状凹陷。

杯状病毒科的特点是球形，SRSV 大小约 27nm，HuCV 31～38nm，无包膜。基因组为单正链 RNA，7.3～7.7kb，有三个开放读框。只有一种衣壳蛋白。尚不能细胞培养，也无合适动物模型。

SRSV 是世界上引起非细菌性胃肠炎暴发流行最重要的病原体，血清学研究也证实

这一点。流行季节为冬季，可累及任何年龄组，学校、家庭、医院、度假村等集体机构均可发生流行。在美国成人无菌性急性胃肠炎的暴发中有42%由该类病毒引起，我国尚未有暴发流行的报道。病人、隐性感染者、健康带毒者为传染源。粪-口为主要传播途径，其次为呼吸道。传染性强。污染的水源和食物，尤其是海产品是引起流行的重要原因。

SRSV感染引起小肠绒毛轻度萎缩和粘膜上皮细胞的破坏。潜伏期约24h，突然发病，恶心、呕吐、腹痛和轻度腹泻，呈自限性，无死亡发生。感染后可产生相应抗体。Norwalk病毒血清流行病学调研表明5岁以下抗体阳性率为20%，18～35岁为45%，45～65岁为55%～60%，亦有高达89.7%的报道。但在发展中国家，到5岁时抗体检出率几达100%。抗体保护作用不明确。HuCV主要引起5岁以下小儿腹泻，但发病率很低。据英国报告资料，其引起的腹泻只占病毒性胃肠炎的0.8%～0.9%。其临床症状类似轻型轮状病毒感染。

第四节 星状病毒

星状病毒属包括人、哺乳动物和鸟类星状病毒。人星状病毒于1975年从腹泻婴儿粪便中分离得到，球形，28～30nm，无包膜，电镜下表面结构呈星形，有5～6个角。核酸为单正链RNA，7.0kb，两端为非编码区，中间有三个重叠的开放读框。在有胰酶存在下星状病毒可在某些培养细胞（如大肠癌细胞）中生长并产生CPE。

该病毒呈世界性分布，粪-口传播，易感者为5岁以下婴幼儿，其中5%～20%为隐性感染。在温带地区，冬季为流行季节，但发病率只占病毒性腹泻的2.8%。

病毒侵犯十二指肠粘膜细胞，并在其中大量增殖，造成细胞死亡，释放病毒于肠腔中。在急性期，粪中病毒可达10^{10}病毒体/g，是医院内感染的主要病原体。潜伏期3～4d，症状包括发热、头痛、恶心、腹泻，后者可持续2～3d，甚至更长。感染后可产生抗体，3～4岁的儿童抗体阳性率为64%，5～10岁可达87%，抗体有保护作用，免疫力较牢固。

（刘晶星）

第29章 肝炎病毒

肝炎病毒是引起病毒性肝炎的病原体，目前公认的人类肝炎病毒至少有5种型别，包括甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、丁型肝炎病毒及戊型肝炎病毒。其中甲型肝炎病毒与戊型肝炎病毒由消化道传播，引起急性肝炎，不转为慢性肝炎或慢性携带者。乙型与丙型肝炎病毒均由输血、血制品或注射器污染而传播，除引起急性肝炎外，可致慢性肝炎，并与肝硬化及肝癌相关。丁型肝炎病毒为一种缺陷病毒，必须在乙型肝炎病毒等辅助下方能复制，故其传播途径与乙型肝炎病毒相同。近年来还发现一些与人类肝炎相关的病毒如己型肝炎病毒（HFV）、庚型肝炎病毒（HGV）和TT型肝炎病毒（TTV）等。流行病学研究发现，HFV是一类经消化道传播的病原体，由于病毒分离与基因克隆均未成功，本章将不作介绍。HGV与TTV的基因组序列均已明确，但其作为人类肝炎病原体的致病性仍有较大争议。此外，还有一些病毒如巨细胞病毒、EB病毒、黄热病病毒等也可引起肝炎，但不列入肝炎病毒范畴。

第一节 甲型肝炎病毒

一、生物学性状

形态与结构 甲型肝炎病毒（hepatitis A virus，HAV）是Feinstone于1973年采用免疫电镜技术首先在急性期肝炎患者的粪便中发现的。现知HAV属小RNA病毒科，肠道病毒72型。形态、大小与肠道病毒相似，直径约为27nm，呈球形，二十面体立体对称，无包膜（图29-1）。比肠道病毒更耐热，60℃ 1h不被灭活，对乙醚、酸处理（pH3）均有抵抗力。HAV的核酸为单一的正链RNA，长约7500个核苷酸，基因结构由5’末端非编码区、编码区和3’末端非编码区组成。5’末端区虽不编码蛋白质，但因其序列较保守，可用于制作探针，进行核酸杂交快速诊断HAV感染。编码区所编码的结构蛋白是一个大分子蛋白质，经断裂后，成为不同的多肽（VP1、VP2、VP3及VP4）。这些多肽构成壳粒，组成衣壳蛋白包围并保护核酸。编码区还编码病毒复制所需的RNA多聚酶、蛋白酶等。病毒的衣壳蛋白有抗原性（HAV Ag），可诱生抗体。迄今，在世界各地分离的HAV均只有一个血清型。

感染模型与细胞培养 黑猩猩和狨猴对HAV易感，经口或静脉注射可使动物发生肝炎，并能在肝细胞浆中检出HAV。在潜伏期和急性期的早期，HAV可随粪便排出。恢复期血清中能检出HAV的相应抗体。用我国猕猴属中的红面猴（*Macaca thebatana*）

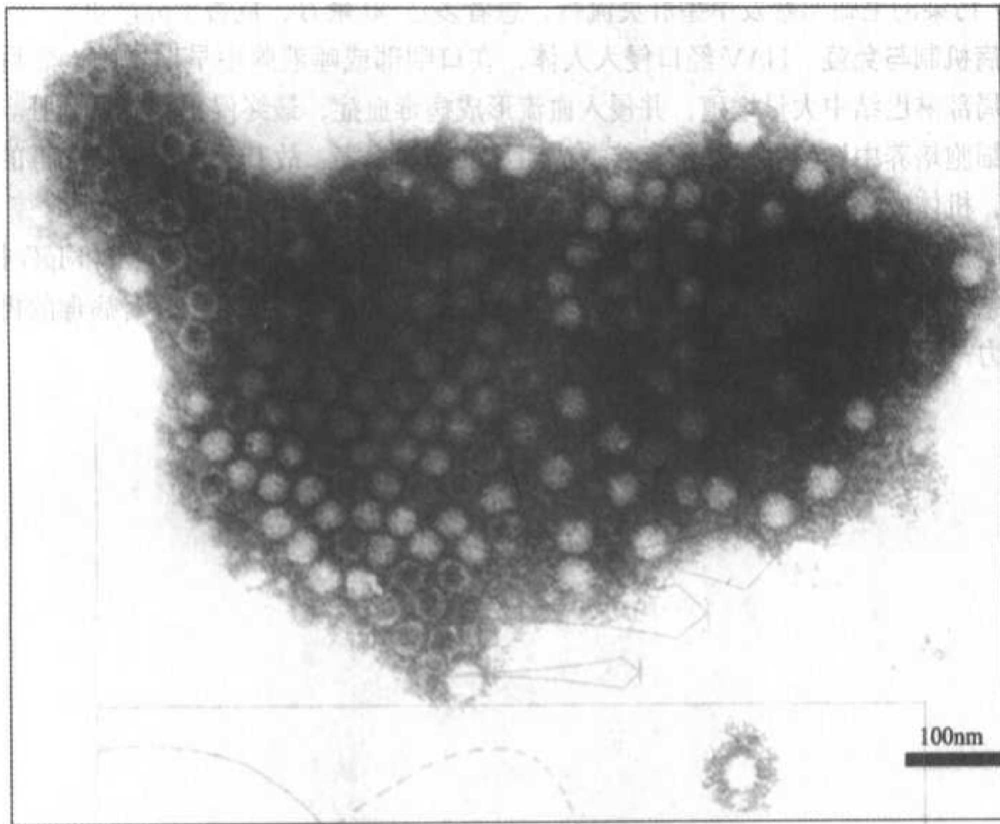


图 29-1　甲型肝炎病毒

病人粪便提取物。病毒颗粒呈六角形，可见成熟病毒和不成熟病毒同时存在

实验感染 HAV，发现红面猴亦对 HAV 易感，并从其粪便中分离到 HAV。动物模型的主要用途在于研究发病、免疫机制及对减毒活疫苗的毒力和免疫效果考核。

1972 年，Provost 等首次成功地将已在狨猴中传代的毒株培养在原代肝细胞或恒河猴胚肾传代细胞株。以后，HAV 不经动物传代的适应过程也可直接在人胚肺二倍体细胞株中增殖，表明不少细胞株均对 HAV 易感。然而本病毒增殖非常缓慢，自细胞释放亦十分缓慢，不引起细胞裂解。因此，自标本中分离 HAV 常需数周甚至数月，并很难获得大量病毒。应用免疫荧光染色法，可检出细胞培养中的 HAV；亦可将培养细胞裂解后，用放射免疫法检测 HAV。经反复传代及选择，目前已有个别毒株在 3～5d 内即可较大量的增殖，其基因组与野生型毒株基因组间有 40 余处的核苷酸变异，但变异的毒株仍不能裂解细胞。

二、致病性与免疫性

传染源与传播途径　HAV 主要通过粪-口途径传播，传染源多为患者。甲型肝炎的潜伏期为 15～50d，病毒常在患者转氨酶升高前 5～6d 就存在于患者的血液和粪便中。HAV 随患者粪便排出体外，通过污染水源、食物、海产品（毛蚶等）、食具等传播而造成散发性流行或大流行。发病后 2 周开始，随着肠道中抗-HAV IgA 及血清中抗-HAV IgM/IgG 的产生，粪便中不再排出病毒。由于 HAV 比肠道病毒更耐热、耐氯化物的消毒作用，故可在污染的废水、海水及食品中存活数月或更久。1988 年上海曾发生因生

食 HAV 污染的毛蚶而暴发甲型肝炎流行，患者多达 30 余万，危害十分严重。

致病机制与免疫 HAV 经口侵入人体，在口咽部或唾液腺中早期增殖，然后在肠粘膜与局部淋巴结中大量增殖，并侵入血流形成病毒血症，最终侵犯靶器官肝脏。由于病毒在细胞培养中增殖缓慢并不直接造成明显的细胞损害，故其致病机制除病毒的直接作用外，机体的免疫应答在引起肝组织损害中起一定作用。

在甲型肝炎的显性感染或隐性感染中，机体都可产生抗-HAV 的 IgM 和 IgG 抗体。前者在急性期和恢复早期出现；后者在恢复后期出现，并可维持多年，对病毒的再感染有免疫力（图 29-2）。甲型肝炎的预后较好。

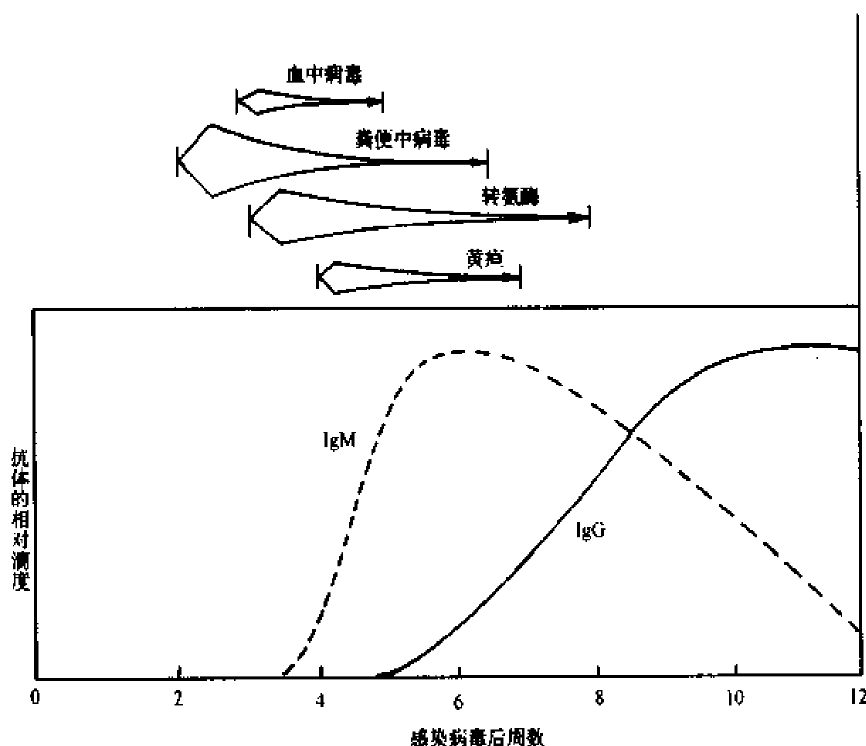


图 29-2 甲型肝炎的临床表现与血清学反应

三、微生物学检查法

甲型肝炎患者一般不进行病原学分离检查，微生物学检查以测定病毒抗原或抗体为主。感染早期可检测病人血清中抗-HAV IgM（RIA 或 ELISA 法），它出现早，消失快，是 HAV 新近感染的重要指标。对了解既往感染史或进行流行病学调查、检测群体中抗-HAV 阳性率，分析人群的免疫力，则需检测抗-HAV IgG。对于接种甲肝疫苗者，在注射前后及随访过程中需检测中和型抗-HAV。测定方法是用一株可在猴胚肾细胞引起病变的 HAV（HM175/18f）进行接种，用抗体抑制病变的出现来测定中和抗体效价。也可检测 HAV 抗原，或用核酸杂交法、PCR 法检测 HAV RNA，但不常用。

防治原则 HAV 主要通过粪便污染饮食和水源经口传染。加强卫生宣教工作和饮食业卫生管理，管好粪便，保护水源，是预防甲肝的主要环节。病人排泄物、食具、物品和床单衣物等，要认真消毒处理。丙种球蛋白注射对甲肝有被动免疫预防作用。在潜

伏期，肌肉注射丙种球蛋白（0.02～0.12ml/kg体重），能预防或减轻临床症状。现我国使用的减毒甲肝活疫苗（H2株），是由患者粪便中分离、经人胚肺二倍体细胞株连续传代减毒而制成。在2万余名儿童中试用，效果很好。国外已发展了灭活疫苗，系将HM175毒株在人胚肺二倍体细胞（MRC5或KMB17）中传代，通过反复冻融以释放细胞内的病毒，纯化后用250μg/ml甲醛在37℃灭活15d制成。在数个国家试用有效，但价格昂贵。目前已在研制基因工程疫苗，初步结果显示单独用VP1等，动物免疫效果差，只有当表达的病毒衣壳形成颗粒状，才有良好的免疫原性。

第二节　乙型肝炎病毒

乙型肝炎病毒（hepatitis B virus，HBV）是通过先发现其表面抗原（HBsAg；过去称为HAA，hepatitis associated antigen）而逐步被认识的。1963年Blumberg在研究人类血清蛋白的多态性时，发现澳大利亚土著人血清中有一种异常抗原。通过纯化抗原，制备抗体，并与临床研究联系，最后确认是HBV的表面抗原。HBV在世界范围内传播，估计全世界有乙型肝炎患者及无症状HBV携带者达2亿人之多，其中有1亿在我国。

一、生物学性状

形态与结构

1．大球形颗粒　是有感染性的HBV完整颗粒，呈球形，直径为42nm，具有双层衣壳（图29-3）。因Dane（1970年）首先在乙肝感染的血清中发现，故又称为Dane颗

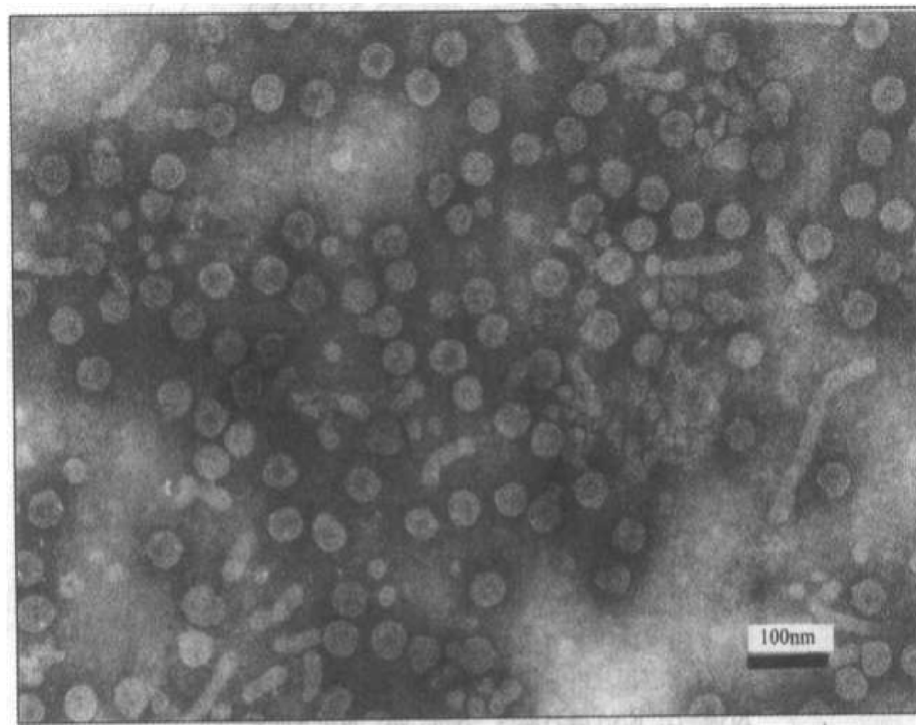


图29-3　乙型肝炎病毒

病人血清标本。主要为Dane颗粒、少数为小球形和管形的HBsAg

粒。其外衣壳相当于一般病毒的包膜，由脂质双层与蛋白质组成，HBV 的表面抗原(HBsAg 及少量 Pre S1，Pre S2）即镶嵌于此脂质双层中。用去垢剂去除病毒的外衣壳，可暴露一电子密度较大的核心结构，其表面为病毒的内衣壳，是 HBV 核心抗原(HBcAg)。在酶或去垢剂作用后，可暴露出 e 抗原（HBeAg)。HBeAg 可自肝细胞分泌而存在于血清中，而 HBcAg 则仅存在于感染的肝细胞核内，一般不存在于血循环中。HBV 大球形颗粒的内部含有病毒的 DNA 和 DNA 多聚酶。

2. 小球形颗粒　直径为 22nm，成分为 HBsAg，一般很少含 Pre S1 或 Pre S2 抗原。这种不含病毒核酸 DNA 及 DNA 多聚酶的小球形颗粒，大量存在于血流中，它是由 HBV 感染肝细胞时产生的过剩的病毒衣壳装配而成的。

3. 管形颗粒　成分与小球形颗粒相同，长 100～500nm，直径 22nm，亦存在于血流中。这种颗粒是由小球形颗粒"串联而成"，内无核酸，具有与 HBsAg 相同的抗原性。

基因结构与复制方式　HBV DNA 的结构特殊，为双链环状 DNA，但其中有一段仅为单链。单链区（裂隙区）的长短在各病毒体可不等，约为全基因长度的一半。由于病毒的基因结构与众不同，1986 年国际病毒分类委员会将其命名为嗜肝 DNA 病毒科(Hepadnaviridae)。病毒 DNA 的长链为负链，较短的一链为正链，两链 DNA 的 5' 末

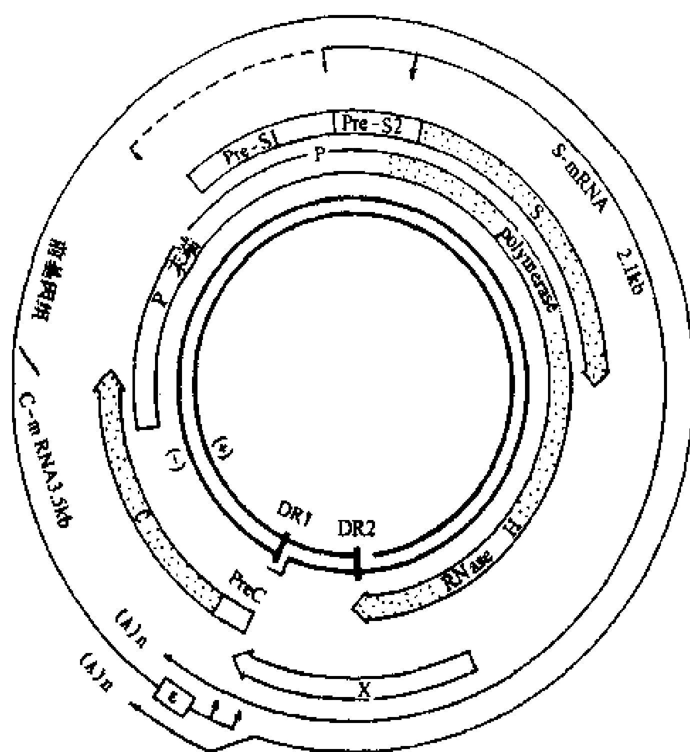


图 29-4　乙型肝炎病毒基因结构模式图
S：表面抗原基因　Pre-S1，Pre-S2：前表面抗原 1、2 基因
C：核心抗原基因　Pre C：前核心抗原基因
X：X 基因　P：P 基因　polymerase：多聚酶基因
RNase H：RNA 酶 H 基因　S-mRNA：转录 S 的 mRNA
C-mRNA：转录 C 的 mRNA　DR1、DR2：直接重复序列 1、2

端有长达 250～300 个互补的碱基，通过碱基配对（正链恰好与负链的核苷酸序列互补）构成环状 DNA 结构。在负链 DNA 的 5’末端有一低分子量的蛋白质，在正链的 5’末端则有一段短 RNA，它们是引导 DNA 合成的引物。病毒体的 DNA 多聚酶既具有以 RNA 为模板合成 DNA 的逆转录酶功能，又有催化合成 DNA 的多聚酶功能，故成为目

7. 复制中的正链 DNA（长短不等）与完整的负链 DNA 结合并包装于内衣壳中、再包上外衣壳成为病毒体，从细胞质释放至细胞外。

由于 HBV 复制有逆转录过程，故病毒的 DNA 可整合于靶细胞的染色体中，已知整合区约有 50%以上为负链的 5'-末端区。此外，S 基因可以 2.1kb RNA 为 mRNA 转译成 HBsAg，故在部分 HBV 感染者中虽无病毒复制，但可长期产生 HBsAg。

抗原组成

1. 表面抗原（HBsAg） 是由糖基化的 gp27 和非糖基化的 gp24 亚单位，通过二硫键连接形成的二聚体蛋白，代表 HBsAg 的结构单位。因 HBsAg 大量存在于感染者血中，是 HBV 感染的主要标志。HBsAg 具有抗原性、可引起机体产生特异保护性的抗-HBs，也是制备疫苗的最主要成分。已知 HBsAg 有不同的亚型，各亚型均有共同抗原表位（称为 a 抗原），此外还有二组互相排斥的亚型抗原表位（d/y 和 w/r）。按不同的组合形式，构成 HBsAg 四个基本亚型，即 adr、adw、ayr、ayw。HBsAg 亚型的分布有明显的地区差异，我国汉族以 adr 多见，少数民族多为 ayw。因有共同的 a 抗原，故制备疫苗时各亚型间有交叉保护作用。Pre S1 及 Pre S2 抗原具有吸附于肝细胞受体的表位，其抗原性比 HBsAg 更强，抗-Pre S2 及 Pre S1 能通过阻断 HBV 与肝细胞结合而起抗病毒作用。

2. 核心抗原（HBcAg） 存在于 Dane 颗粒核心结构的表面，为内衣壳成分，其外被 HBsAg 所覆盖，故不易在血循环中检出。HBcAg 的抗原性强，能刺激机体产生抗-HBc。抗-HBc IgG 在血中持续时间较长、为非保护性抗体；抗-HBc IgM 的存在常提示 HBV 处于复制状态。HBcAg 可在感染的肝细胞表面存在，能被杀伤性 T 细胞识别，在清除 HBV 感染细胞中有重要作用。

3. e 抗原（HBeAg） 是由 Pre C 及 C 基因编码，整体转录及转译后成为 e 抗原（如仅由 C 基因转录、转译则为 HBcAg）。HBeAg 为可溶性蛋白质，游离存在于血中，其消长与病毒体及 DNA 多聚酶的消长基本一致，故可作为 HBV 复制及具有强感染性的一个指标。HBeAg 可刺激机体产生抗-HBe，抗-HBe 能与受染肝细胞表面的 HBeAg 结合，通过补体介导破坏受染的肝细胞，故对 HBV 感染有一定的保护作用。抗-HBe 的出现是预后良好的征象。近年发现存在 HBV 的 Pre C 区突变株，在 Pre C 区出现终止密码子，使 Pre C 基因不能与 C 基因共同转译出 HBeAg，故受染细胞常不能被抗-HBe 及相应的细胞免疫所识别而清除，从而使变异株在抗-HBe 阳性的情况下仍大量增殖。因此，对抗-HBe 阳性的患者也应注意检测其血中的病毒 DNA，以全面了解病情判断预后。

动物模型与细胞培养 黑猩猩是对 HBV 最敏感的动物，故常用来进行 HBV 的致病机制研究和疫苗效价及安全性评价。1980 年以来，在鸭、土拨鼠及地松鼠中分别发现了与 HBV 基因结构相似的鸭乙型肝炎病毒等，已被共同列入嗜肝 DNA 病毒科。鸭乙肝病毒感染的动物模型，在我国已被用于过筛抗病毒药物及研究消除免疫耐受机制。HBV 尚不能在细胞培养中分离及培养，目前采用的细胞培养系统是病毒 DNA 转染系统。将病毒 DNA 导入肝癌等细胞后，病毒可整合并复制，在细胞中表达 HBsAg、

HBcAg 并分泌 HBeAg，有些细胞株还可持续地产生 Dane 颗粒。这些细胞培养系统主要用于过筛抗 HBV 药物。用 S 基因转染一些细胞系，如中国地鼠卵巢细胞（CHO 细胞），可以分泌 HBsAg 而不含病毒其他蛋白，已用于制备疫苗。

抵抗力　HBV 对外界环境的抵抗力较强，对低温、干燥、紫外线均有耐受性。不被 70%乙醇灭活，因此这一常用的消毒方法并不能用于 HBV 的消毒。高压灭菌法、100℃加热 10min 和环氧乙烷等均可灭活 HBV。0.5%过氧乙酸、5%次氯酸钠亦可用于

伤。细胞免疫应答的强弱与临床过程的轻重及转归有密切关系：当病毒感染波及的肝细胞数量不多、免疫应答处于正常范围时，特异的CTL可摧毁病毒感染的细胞，释放至细胞外的HBV则可被抗体中和而清除，临床表现为急性肝炎，并可较快恢复痊愈。相反，若受染的肝细胞为数众多，机体的细胞免疫应答超过正常范围，引起迅速大量细胞坏死、肝功能衰竭时，可表现为重症肝炎。当机体免疫功能低下，病毒在感染细胞内复制，受到CTL的部分杀伤作用，病毒仍可不断释放，又无有效的抗体中和病毒时，病毒则持续存在并再感染其他肝细胞，造成慢性肝炎。慢性肝炎造成的肝病变又可促进成纤维细胞增生，引起肝硬化。

4. 免疫复合物引起的病理损伤　在部分乙型肝炎患者血循环中，常可检出HBsAg及抗-HBs的免疫复合物。免疫复合物可沉积于肾小球基底膜、关节滑液囊等，激活补体，导致Ⅲ型超敏反应，故患者可伴有肾小球肾炎、关节炎等肝外损害。免疫复合物大量沉积于肝内，可使肝毛细管栓塞，并可诱导产生肿瘤坏死因子（TNF）导致急性肝坏死，临床表现为重症肝炎。

5. 自身免疫反应引起的病理损害　HBV感染肝细胞后，细胞膜上除有病毒特异性抗原外，还会引起肝细胞表面自身抗原发生改变，暴露出肝特异性脂蛋白抗原（liver specific protein，LSP)。LSP可作为自身抗原诱导机体产生针对肝细胞组分的自身免疫反应，通过CTL的杀伤作用或释放淋巴因子的直接或间接作用，损害肝细胞。自身免疫反应引起的慢性肝炎患者血清中，常可测及LSP抗体或抗核抗体、抗平滑肌抗体等自身抗体。

HBV与原发性肝癌　研究发现，初生时即感染土拨鼠肝炎病毒（WHV）的土拨鼠，经3年饲养后100%发生肝癌，而未感染WHV的土拨鼠无一发生肝癌。人群流行病学研究显示，HBsAg携带者较无HBV感染者，发生肝癌的危险性高217倍。肝癌组织检测发现有HBV DNA的整合，整合的HBV基因片段有50%左右为负链DNA 5’末端片段，即X基因片段。因X蛋白（HBxAg）可反式激活细胞内癌基因，故HBV可能是致癌的启动因子，经一系列过程后导致肝癌的发生。

三、微生物学检查法

乙型肝炎抗原、抗体检测　目前主要用血清学方法检测HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe及抗-HBc（俗称“两对半”），抗-Pre S1或抗-Pre S2的检测不常用。HBcAg仅存在于肝细胞内，也不用于常规检查。HBsAg的检测最为重要，可发现无症状携带者，是献血员筛选的必检指标。近年来，PCR已用于乙肝临床诊断。血清学方法以RIA和ELISA最为敏感，而PCR中以PCR-ELISA和PCR荧光法最常用。

乙型肝炎抗原、抗体检测结果的分析　HBV抗原、抗体的血清学标志与临床关系较为复杂，必须对几项指标同时分析，方能有助于临床判断（表29-1，图29-6)。

HBsAg阳性见于急性肝炎、慢性肝炎或无症状携带者。急性肝炎恢复后，一般在1～4个月内HBsAg消失，若持续6个月以上则认为已向慢性肝炎转化。无症状HBsAg携带者是指肝功能正常者，携带者的肝穿刺病理组织切片常可发现已有病变，但无临床

表 29-1 HBV抗原、抗体检测结果的临床分析

HBsAg	HBeAg	抗-HBs	抗-HBe	抗-HBc	结果分析
+	-	-	-	-	HBV感染或无症状携带者
+	+	-	-	-	急性或慢性乙型肝炎，或无症状携带者
+	+	-	-	+	急性或慢性乙型肝炎（传染性强，“大三阳”）
+	-	-	+	+	急性感染趋向恢复（“小三阳”）
-	-	+	+	+	既往感染恢复期
-	-	+	+	-	既往感染恢复期
-	-	-	-	+	既往感染或“窗口期”
-	-	+	-	-	既往感染或接种过疫苗

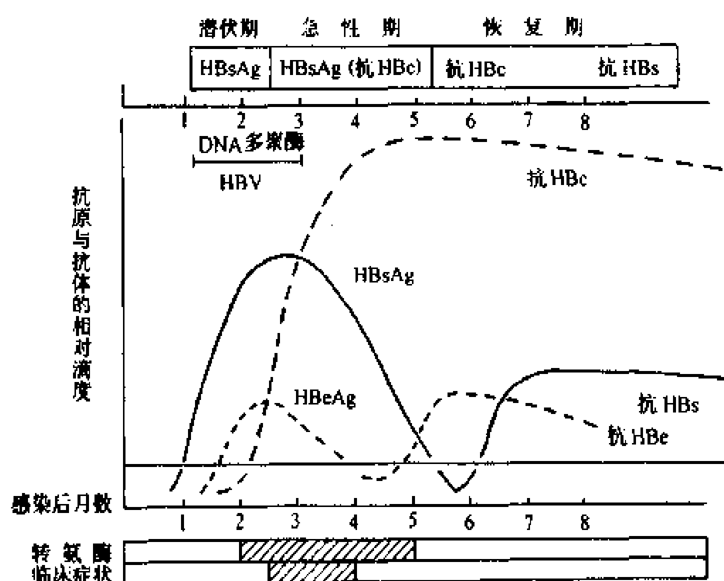


图 29-6 乙型肝炎的临床表现与血清学反应

症状。携带者可长期为HBsAg阳性，也可伴有HBeAg阳性及病毒血症，具有很强的传染性，少部分可发展为肝硬化或肝癌。

抗-HBs的出现常显示患者已恢复或痊愈，抗-HBs效价高者预后更好。HBeAg阳性提示HBV在体内复制，如转为阴性，表示病毒停止复制。抗-HBe阳性表示机体已获得一定的免疫力，出现变异株者例外。抗-HBc IgM阳性，则提示仍有病毒复制。

血清HBV DNA检测 应用核酸杂交法检测血清中有无HBV DNA以进行疾病诊断，在较大医院中也被作为药物疗效的考核指标。采用PCR检测HBV DNA，因方法过于敏感，应根据需要选用。

血清DNA多聚酶检测 可判断体内是否有病毒正在进行复制，但近年来已被检测HBV DNA所取代。

四、防治原则

加强对供血员的筛选，以减低输血后乙型肝炎的发生率。病人的血液、分泌物和排泄物，用过的食具、药杯、衣物以及注射器和针头等，均须煮沸消毒15～30min，或用3%漂白粉澄清液、5%过氧乙酸、1200ppm的二氯异氰脲酸钠、0.2%新洁而灭等浸泡后洗涤、消毒。提倡使用一次性注射器具。对高危人群应采取如下特异性预防措施。

主动免疫 注射乙肝疫苗是最有效的预防方法。第一代疫苗为乙肝HBsAg血源疫苗，由血液中提纯HBsAg经甲醛灭活而成，新生儿应用这种疫苗免疫3次（0、1、6个月），可获得90%以上的抗-HBs阳性率。第二代为基因工程疫苗：将编码HBsAg的基因在酵母菌、哺乳动物细胞或牛痘苗病毒中高效表达，经纯化后得大量HBsAg供制备疫苗。基因工程疫苗的优点是可以大量制备且排除了血源疫苗中可能存在的未知病毒感染。第三代为HBsAg多肽疫苗或HBV DNA核酸疫苗，目前还在研究中，免疫原性尚需改进。

被动免疫 含高效价抗-HBs的人血清免疫球蛋白（HBIG）可用于被动免疫预防。紧急情况下，立刻注射HBIG0.08mg/kg，在8d之内均有预防效果，两个月后需再重复注射一次。

乙肝的治疗至今尚无特效方法，一般认为用广谱抗病毒药物和调节机体免疫功能的药物同时治疗较好。贺普丁、病毒唑、Ara-A、干扰素及清热解毒、活血化瘀的中草药等，对部分病例有一定疗效。

第三节 丙型肝炎病毒

丙型肝炎病毒（hepatitis C virus，HCV）于1989年方被命名，1991年被归属于黄病毒科（Flaviviridae），过去早被称为肠道外传播的非甲非乙型肝炎病毒。虽然丙型肝炎作为疾病早就发现，但因本病毒不能在体外培养，在血流中的含量又很少，故对HCV的认识主要是来自黑猩猩实验及分子生物学研究所得的结果。

一、生物学特性

HCV是一类具有包膜结构的单正链RNA病毒。病毒体呈球形，大小为40～60nm。对氯仿、甲醛、乙醚等有机溶剂敏感。可感染黑猩猩并在体内连续传代，引起慢性肝炎。1989年，美国学者自10000ml的HCV阳性黑猩猩血浆中超速离心收集病毒，提取RNA，逆转录成cDNA，克隆入载体，首次获得约70%的HCV基因，并利用表达的蛋白，建立了特异的抗体检测系统。此后，学者们又克隆了来自丙肝患者血清的HCV毒株，并获得了全基因组序列。

HCV基因组为一条单正链线状RNA，长度约9.5kb，由9个基因区组成（图29-7）：自5'端开始，依次为5'端非编码区、核心蛋白区（core，C区）、包膜蛋白-1区（E1区）、包膜蛋白-2/非结构蛋白-1区（E2/NS1区）、非结构蛋白-2区（NS2区）、非

结构蛋白-3区（NS3区）、非结构蛋白-4区（NS4区）、非结构蛋白-5（NS5区）和3'端非编码区。其中C区和E1区为病毒结构蛋白编码区，即编码病毒的衣壳及包膜蛋白。5'端非编码区的核苷酸序列保守性强，可用于基因检测诊断。E1、E2/NS1区基因容易发生变异，使包膜蛋白的抗原性改变而不被原有的抗包膜抗体识别，使病毒得以持续存在，这是HCV易引起慢性丙型肝炎的原因之一。C、NS3、NS4及NS5区基因的表达产物，可用于检测患者血清中的抗-HCV。

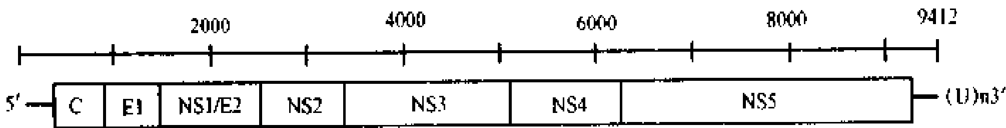


图29-7 丙型肝炎病毒基因结构图

C：核心基因 E：包膜基因 NS：非结构蛋白基因

根据HCV毒株基因序列的差异，可将HCV分为不同的基因型。其中欧美各国流行株多为Ⅰ型；亚洲地区以Ⅱ型为主，Ⅲ型为辅；Ⅴ、Ⅵ型主要在东南亚（泰国等）。Ⅳ型与Ⅲ型接近，我国以Ⅱ型为主。目前认为Ⅱ型HCV复制产生的病毒量多，较难治疗。

二、致病性与免疫性

多数丙型肝炎患者可不出现症状，发病时已呈慢性过程。慢性肝炎的表现亦轻重不等，约20%可发展为肝硬化。一般认为Ⅱ型HCV的致病性较强，复制快，血流中病毒量多，故症状较重。应用免疫组化染色证实，病毒除存在于肝细胞质中，在肝外（如淋巴细胞）亦有存在。肝穿刺病理学检查可见肝内淋巴细胞浸润及肝细胞坏死，部分丙肝患者可出现肾小球肾炎，提示HCV的抗原可形成免疫复合物沉积于肾小球基底膜。HCV是引起输血后慢性肝炎及肝硬化的主要原因之一。在意大利、希腊、日本等国肝癌患者血中，50%～70%抗-HCV阳性，我国肝癌患者血中约10%存在抗-HCV。自癌

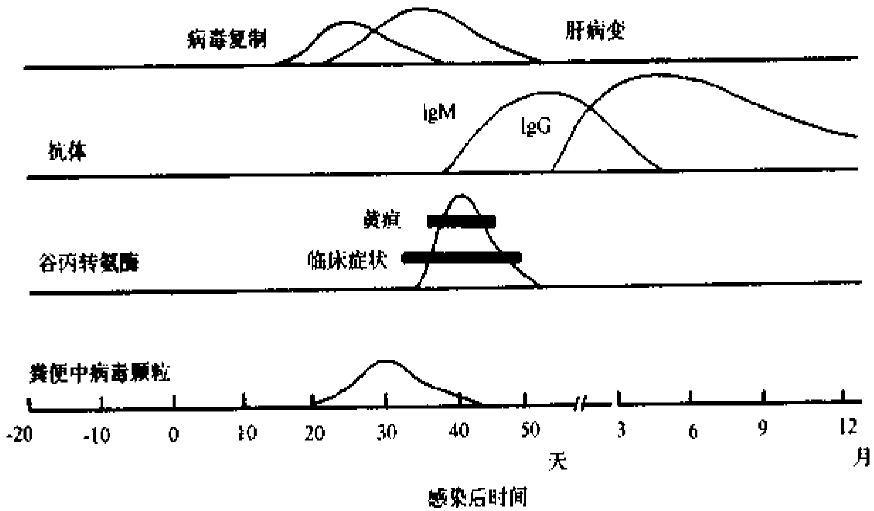


图29-8 丙型肝炎病毒感染后病毒、血清抗体等与临床关系示意图

组织提取 RNA，用逆转录-PCR（RT-PCR）检测，约 10%有 HCV RNA。

丙型肝炎患者恢复后，仅有低度免疫力。实验感染黑猩猩恢复后，再用同一毒株攻击，几乎无保护力，提示免疫力不强。机体感染 HCV 后，可依次出现 IgM 和 IgG 型抗体（图 29-8）。特异性淋巴细胞增殖实验显示，部分恢复期 HCV 感染者可出现阳性反应。在免疫力低下人群中，可能同时感染 HBV 及 HCV，这种双重感染是否会导致疾病加重，尚无定论。

三、微生物学检查法

检查病毒 RNA 因 HCV 在血液中含量很少，故需用极敏感的检测方法。采用套式 RT-PCR 法，即从病人血清中提取病毒 RNA，经逆转录酶作用合成 cDNA，再用 2 对引物先后扩增，以求扩增出极微量的病毒 RNA。由于 5' 端非编码区序列最为保守，故 2 对引物的序列均应选自该区。目前常采用 PCR-荧光法检测 HCV RNA，此法不但可以定性，亦可定量检测。

检查抗体 以核心区蛋白与 NS3、NS4 及 NS5 区蛋白为抗原，用酶联免疫法检测抗体，可快速过筛献血员并可用于诊断丙肝患者。抗-HCV 阳性者表示已被 HCV 感染，不可献血。为确诊还可进一步以不同表达蛋白分别检测相应抗体（蛋白印迹法检测）。

四、防 治 原 则

我国已规定，检测抗-HCV 是过筛献血员的必需步骤，对血制品亦需进行检测以防污染。疫苗的研制有一定难度，因 HCV 免疫原性不强，且毒株易变异。

第四节 丁型肝炎病毒

1977 年，意大利学者 Rizzetto 在用免疫荧光法检测乙型肝炎患者的肝组织切片时，发现肝细胞内除 HBcAg 外，还有一种新的抗原，当时称其为 δ 抗原。通过黑猩猩实验发现，自肝提取的这种因子可引起实验动物感染。以后证实这是一种缺陷病毒，必须在 HBV 或其它嗜肝 DNA 病毒辅助下才能复制，现已正式命名为丁型肝炎病毒（hepatitis D virus，HDV）。

一、生物学特性

HDV 为球形，直径 35～37nm，基因组为一单负链环状 RNA，长度为 1.7kb，是已知动物病毒中最小的基因组。HDV RNA 可编码一种 HDV 抗原（HDAg），该抗原可刺激机体产生抗体，故可自感染者血清中检出 HDV RNA 或抗-HD。应用制备的抗-HD 还可对肝组织切片染色，以检测 HDAg。

HDV 颗粒由 HBsAg 构成其外壳，内含 HDV RNA 及与之结合的 HDAg（图 29-9）。HBsAg 可防止 HDV RNA 水解，在 HDV 致病中起重要作用，但它并非 HDV 的基因产物，而是由同时感染宿主细胞的 HBV 提供的。HDAg 的分子量约 68000，有 24000 和

27000（P24 和 P27）两种多肽形式，主要存在于肝细胞内，在血清中出现早，但仅维持 2 周左右，故不易检测到。HDV 传播途径与 HBV 相似。急性丁型肝炎有两种感染方式：一是联合感染（coinfection），即同时发生急性乙肝和急性丁肝；另一是重迭感染（superinfection），即慢性 HBsAg 携带者发生急性 HDV 感染。黑猩猩及土拨鼠可作为 HDV 临床研究的动物模型。

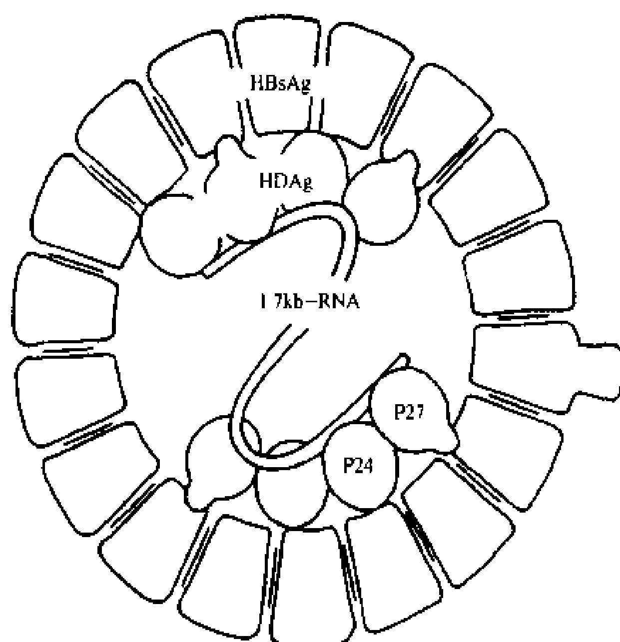


图 29-9　HDV 结构示意图

二、致病性与免疫性

流行病学调查表明，HDV 感染呈世界性分布，我国以四川等西南地区较多见。全国各地报道的乙肝患者中，HDV 的感染率为 0%～10%。在 HDV 感染早期，HDAg 主要存在于肝细胞核内，随后出现 HDAg 抗原血症。HDAg 刺激机体产生特异性抗-HD，初为 IgM 型，随后是 IgG 型抗体。HDV 感染常可导致乙肝病毒感染者的症状加重与恶化，故在发生重症肝炎时，应注意有无 HBV 伴 HDV 的共同感染。HDV 与 HBV 有相同的传播途径，预防乙肝的措施同样适用于丁肝。由于 HDV 是缺陷病毒，如能抑制乙肝病毒，则 HDV 亦不能复制。

三、微生物学检查法

HDV 感染后 2 周产生抗-HD IgM，一个月达到高峰，随之迅速下降。抗-HD IgG 产生较迟，在恢复期出现。丁肝抗体不能清除病毒，如持续高效价，可作为慢性丁肝的指标。一般可用免疫荧光法、RIA 或 ELISA 检测肝组织或血清中的 HDAg，但患者标本应先经去垢剂处理，以除去表面的 HBsAg，暴露出 HDAg。也可用血清斑点杂交法或 PCR 检测 HDV 基因组进行诊断。接种 HBV 疫苗也可预防 HDV 感染。

第五节　戊型肝炎病毒

戊型肝炎病毒（hepatitis E virus，HEV）曾称为经消化道传播的非甲非乙型肝炎病毒。1955年首次在印度暴发流行，当时认为是甲型肝炎病毒所致。70年代初建立了HAV的检测方法，重新对当时肝炎患者的血清进行检测，结果未发现患者血清中抗-HAV IgM或IgG效价升高，因此确定为消化道传播的非甲非乙型肝炎病毒所致。1986年，我国新疆南部地区发生戊型肝炎流行，约12万人发病，死亡700余人，是迄今世界上最大的一次流行。1989年，Reyes等应用基因克隆技术，获得了该病毒基因组cDNA克隆，并正式命名为戊型肝炎病毒。

一、生物学特性

HEV病毒体呈球状，无包膜（图29-10），平均直径为32～34nm，表面有锯齿状刻缺和突起，形似杯状，故将其归类于杯状病毒科（Caliciviridae）。本病毒对高盐、氯化铯、氯仿等敏感；在－70～8℃中易裂解，但在液氮中保存稳定。细胞培养未获成功；多种非人灵长类动物可感染HEV。HEV基因组为单正链RNA，全长约7.5kb，具有poly A尾，共有3个ORF，最长的第一个ORF约5kb，编码病毒复制所需的依赖RNA的RNA多聚酶等非结构蛋白。第二个ORF长约2kb，含有编码病毒核衣壳的基因。第三个ORF只有300余个核苷酸，与第一、二ORF有部分重叠（图29-11）。

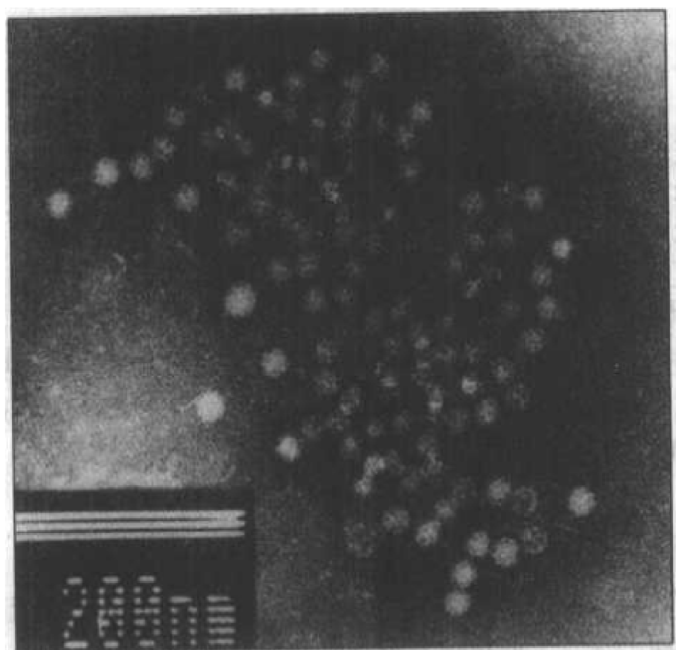


图29-10　戊型肝炎病毒
（庄辉提供）

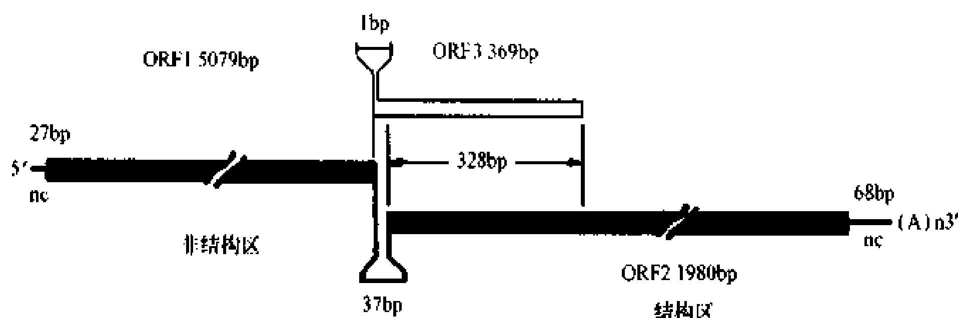


图 29-11　戊型肝炎病毒的基因结构图

已知 HEV 有 2 个基因型，其代表株为缅甸株（B）和墨西哥株（M）。中国株与缅甸株属同一型，两者的核苷酸和氨基酸序列的同源性分别为 93% 和 98%；墨西哥株属另一型，其核苷酸和氨基酸序列与缅甸株的同源性分别为 77% 和 89%。

二、致　病　性

HEV 主要经粪-口途径传播，潜伏期为 10～60d，平均为 40d。经胃肠道进入血液，在肝内复制，经肝细胞释放到血液和胆汁中，然后经粪便排出体外。人感染后可表现为临床型和亚临床型（成人中多见临床型），病毒随粪便排出，污染水源、食物和周围环境而发生传播。潜伏期末和急性期初的病人粪便排毒量最大，传染性最强，是本病的主要传染源。HEV 通过对肝细胞的直接损伤和免疫病理作用，引起肝细胞的炎症或坏死。临床上表现为急性戊型肝炎（包括急性黄疸型和无黄疸型）、重症肝炎以及胆汁淤滞性肝炎。多数患者于发病后 6 周即好转并痊愈，不发展为慢性肝炎。孕妇感染 HEV 后病情常较重，尤以怀孕 6～9 个月最为严重，常发生流产或死胎，病死率达 10%～20%。

三、微生物学检查法

对 HEV 的感染最好作病原学诊断，否则很难与甲型肝炎相区别。可用电镜或免疫电镜技术检测患者粪便中的 HEV 病毒颗粒，也可用 RT-PCR 法检测粪便或胆汁中的 HEV RNA。目前，临床诊断常用的方法是检查血清中的抗-HEV IgM 或 IgG，如抗-HEV IgM 阳性，则可确诊患者受 HEV 感染；如血清中存在抗-HEV IgG，则不能排除是既往感染；因为抗-HEV IgG 在血中持续存在的时间可达数月至数年。

第六节　庚型肝炎病毒

HCV 和 HEV 被鉴定后，仍然有一部分肝炎患者的病原体不明，称为非甲-戊型（non-A-E）肝炎，这部分肝炎需要完全排除其它病因才能确定，鉴定相当困难。1995 年，美国科学家采用代表性差异分析法（representational difference analysis，RDA），从接种病人血清的绢猴（tamarin）中获得了 2 个肝炎相关全序列：GBV-A 和 GBV-B，并最终在人群中扩增出 GBV-C 的全序列。动物实验表明，GBV-C 可引起人类非甲-戊型肝炎。几乎与此同时，美国另一实验室在病人中也发现了与非甲-戊型肝炎病毒相关的基因组全序列，称为 HGV。GBV-C 和 HGV 的核苷酸和氨基酸同源性分别为 85% 和 95%，是

同种病毒的不同分离株。由于其命名未正式明确，现一般将其统称为庚型肝炎病毒（hepatitis G virus，HGV）。

一、生物学特性

现认为HGV属黄病毒家族成员，基因组结构与HCV相似，长约9.5kb，为单正链RNA病毒。整个基因组仅有一个ORF，编码一个长约2900个氨基酸的多蛋白前体，该前体蛋白经病毒和宿主细胞蛋白酶水解后，可形成不同的结构蛋白和非结构（功能）蛋白。在ORF的两侧分别为5'-非编码区（5'-NCR）和3'-非编码区（3'-NCR）。基因组5'端的结构基因依次编码核心蛋白（C）和包膜蛋白（E1、E2），基因序列中存在4个明显的真核信号序列切割位点，其中C/E1的天门冬酰胺-半胱氨酸-半胱氨酸之间为第1个切割位点，其余3个分别位于E1（第80～267位氨基酸）、E2（268～645位氨基酸）和P7（第644～704位氨基酸）蛋白中。3'端的非结构基因区编码病毒的功能蛋白，其中NS3区编码病毒解旋酶、锌蛋白酶和丝氨酸蛋白酶，NS5b编码RNA依赖的RNA多聚酶（RDRP，图29-12）。非结构蛋白NS2/NS3区的水解，由位于NS2羧基端和NS3氨基端的蛋白酶完成。已知NS3/NS4的连接点在第1612～1613的苏氨酸-天门冬酸之间，NS4a/NS4b和NS5a/NS5b的切割位点分别位于1823/1824和2342/2343之间。

HGV基因组核苷酸可发生替代突变及插入/缺失突变，某些插入/缺失突变可改变5'端ATG的起始位置，从而产生大小不同的病毒蛋白。根据其变异情况，可将HGV至少分为5种基因型，其中I型多在西非人群发现，Ⅲ型在亚洲人群中多见。HGV不同分离株的核心蛋白氨基酸长度不一，有些分离株无核心蛋白。

1000 2000 3000 4000 5000 6000 7000 8000 9000 (nt)
48 236 673 904 1581 1921 2311 2873 (aa)
5'-UTR ? E1 E2 NS2 NS3 NS4 NS5a NS5b 3'-UTR
结构区 非结构区

图29-12　HGV基因组结构示意图

二、致　病　性

HGV主要经输血等非肠道途径传播，也存在母-婴传播及静脉注射吸毒和医源性传播等，常与HBV或HCV合并感染。单独感染时症状不明显，肝脏损害程度较轻。合并HGV感染的HCV感染者中，有些病人的HCV感染消失，ALT恢复正常，而HGV感染持续存在，提示HGV可干扰HCV复制或协同机体清除HCV。用HGV RNA阳性者的血清接种黑猩猩，动物血清中HGV RNA持续阳性，但血清ALT及肝组织病理学检查无明显异常。然而，有学者用类似的血清静脉感染猕猴，1周后陆续出现血清HGV RNA阳转、ALT升高、抗HGV阳性等改变，且感染的原代猕猴血清可传代感染另外的猕猴。因此，对HGV的致病性还需进一步研究。

三、微生物学检查法

目前，HGV感染的诊断以RT-PCR为主，采用5'-NCR、NS3区和E2区的套式引物扩增待测标

本中的 HGV 基因片段，引物的敏感性依次为 5'-NCR＞NS3＞E2。尽管 RT-PCR 对实验室条件及操作人员有一定要求，但仍是目前检测 HGV 感染常用和有效的方法。由于 E2 抗体的出现与 HGV RNA 的消失相关，可将 E2 抗体作为 HGV 感染恢复的标志。利用 E2 抗原制备疫苗，不仅可预防 HGV 的感染，而且可作为一种有效的治疗措施。目前已经利用真核系统表达了 E2 抗原并建立了 ELISA 方法检测 E2 抗体，但总的来说，HGV 感染的血清学检测方法目前还不成熟、不可靠。

对 HGV，尚有很多亟待阐明的问题，如是否有核心蛋白存在，是否具有肝细胞亲嗜性，是否为人类肝炎致病因子等。鉴于 HGV RNA 在人群中有较高的阳性率，对 HGV 的传播、致病、变异及检测等研究还是应该给予足够重视的。

第七节　TT 型肝炎病毒

TT 型肝炎病毒是 1997 年首先从一例日本输血后非甲-庚型肝炎病人（T. T.）血清中获得一类新的 DNA 病毒。分子流行病学研究证实，该病毒与输血后肝炎有相关性，可能是一种新型的肝炎相关病毒，遂以病人名字命名为 TT 型肝炎病毒（TTV），同时又与经血传播的病毒（transfusion transmitted virus，TTV）的称谓相巧合。

一、生物学特性

TTV 为无包膜的单负链环状 DNA 病毒，病毒体呈球形，直径为 30～50nm，浮力密度为 1.31～1.34g/ml，初步归类为细小 DNA 病毒科。基因组长约 3.8kb，含有两个 ORF（ORF1 和 ORF2），分别编码 770 个和 203 个氨基酸（图 29-13）。ORF1 的 N 端为富含精氨酸的高亲水区，ORF2 编码非结构蛋白。根据 TTV 第 1902-2257 位核苷酸之间的 356bp 序列，有人将 TTV 分为两型共 4 个亚型，即 G1a、G1b、G2a 和 G2b。此段核苷酸有 2 个保守区，可用作设计 PCR 引物。

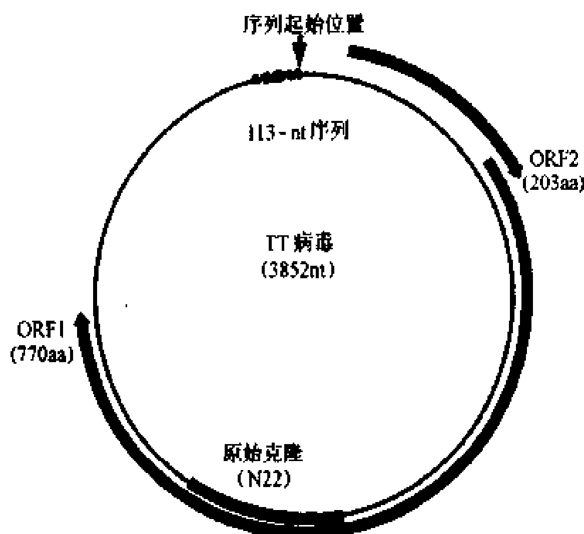


图 29-13　TTV 基因组示意图

二、致　病　性

TTV 主要通过血液或血制品传播，其致病机制尚不明确。TTV DNA 在献血员、肝硬化、肝癌和血友病人中的检出率分别为 12%，48%，39%和 46%；在非甲-庚型慢性肝病和非甲-庚型重症肝炎中

的检出率分别为46%和47%；在ALT正常和异常的献血员中的阳性率分别为16.8%和34%；在急性肝炎、急性重症肝炎、亚急性重症肝炎、慢性肝炎、活动性肝硬变、慢性重症肝炎和原发性肝癌中的阳性率分别为30.8%，12.5%，42.9%，33.3%，22.2%，25.0%和25.0%。TTV可与HCV重叠感染。除经血传播外，还可能存在消化道传播途径，因为在有些病人的粪便中检测到TTV DNA。TTV可在黑猩猩体内传代，但不引起血清生化或组织病理改变。目前，对TTV是否为嗜肝病毒、是否有致病性等，正在进一步研究之中。

三、微生物学检查法

目前的TTV实验室诊断，主要是采用PCR法检测血中TTV DNA。TTV感染可暂时或持续的伴有ALT升高，且TTV DNA与ALT水平相关。部分TTV感染者ALT正常，但肝组织中仍可见灶性坏死、汇管区炎症以及脂肪性变等。采用原位杂交法以地高辛标记的TTV DNA作为探针，对怀疑为TTV感染者的非甲-庚型肝炎患者肝组织进行检测，阳性率为27.5%。TTV DNA主要定位在肝细胞核内，肝细胞质内呈弱阳性，急性肝炎时呈弥漫性分布，慢性肝炎时汇管区较密集，活动性肝炎及慢性重症肝炎时假小叶内呈不规则片状分布。

（臧中田）

第30章 黄病毒

黄病毒属（Flavivirus）是一大群具有包膜的单正链RNA病毒。因它们通过吸血的节肢动物（蚊、蜱、白蛉等）传播，故过去曾归类为虫媒病毒（arbovirus）。由于“虫媒病毒”一词在分类学中含义不够准确，所以现在已经不再使用。在我国，主要的黄病毒成员有乙型脑炎病毒、森林脑炎病毒和登革病毒。与黄病毒许多性状相似，亦通过节肢动物传播，但基因组结构及复制方式不同的甲病毒属主要分布在美洲和非洲，重要的成员有东部马脑炎病毒、西部马脑炎病毒和委内瑞拉马脑炎病毒。以往认为，我国不存在甲病毒感染。近年研究发现新疆、云南、贵州等地区人群亦有不同程度的甲病毒属（辛德毕斯病毒、基孔肯雅病毒、东部马脑炎病毒）感染。

黄病毒与甲病毒的共同特征为：

1. 病毒呈小球状，直径多数为40～70nm。病毒颗粒表面有脂质包膜，其上镶嵌有由糖蛋白组成的刺突，包膜内为20面体对称的核衣壳蛋白，中心含病毒RNA。

2. 病毒基因组核酸为单正链RNA。病毒均在细胞质内增殖，但黄病毒与甲病毒的基因组结构与结构蛋白及非结构蛋白的合成机制有所不同。

3. 病毒对热、脂溶剂和去氧胆酸钠敏感，在pH3～5条件下不稳定。

4. 节肢动物（蚊、蜱、白蛉等）是病毒的传播媒介，又是储存宿主。人、家畜、野生动物及鸟类等受其叮咬后获得感染。

黄病毒和甲病毒感染人的临床表现多样，大致可分为五种类型：

1. 脑炎或脑脊髓炎　如乙型脑炎、森林脑炎、东部马脑炎。
2. 无特殊部位的全身性感染　如登革热、辛德毕斯热。
3. 主要表现为肝炎的全身性感染　如黄热病。
4. 主要表现为出血热的全身性感染　如登革出血热、新疆出血热。
5. 主要表现为关节炎的全身性感染　如基孔肯雅热、罗斯河热。

第一节　乙型脑炎病毒

乙型脑炎病毒（简称乙脑病毒）国外亦称为日本脑炎病毒（Japanese encephalitis virus）。通过蚊子叮咬传播引起乙型脑炎。过去多见于10岁以下的儿童，近年来成人及老年人患者相对增多。随着在儿童中普遍进行疫苗接种，我国乙型脑炎发病率显著下降。该病临床表现有轻有重，严重者病死率高，幸存者可留下神经后遗症。

一、生物学特性

乙脑病毒的结构蛋白有三种：C、M 和 E。C 是衣壳蛋白，M 位于包膜的内面，E 是镶嵌在病毒包膜的糖蛋白，组成血凝素。病毒在 pH6.0～6.5 范围能凝集雏鸡、鸽和鹅的红细胞。最易感动物为乳小鼠，经脑内接种病毒后，多于 3～5d 发病，表现为神经系统兴奋性增高，肢体痉挛，最后转为麻痹而死亡，感染鼠脑组织含大量病毒。病毒在地鼠肾-幼猪肾等原代培养细胞，以及 C6/36 蚊传代细胞中均能增殖，并引起明显的细胞病变。乙脑病毒抗原性稳定，很少变异，不同地区不同时期分离的病毒株之间无明显差异。因此，应用疫苗预防的效果良好。

二、传 播 途 径

传播媒介 在我国，乙脑病毒的主要传播媒介是三带喙库蚊、致乏库蚊和白纹伊蚊。蠛蠓亦可能是传播媒介之一。我国南方此病的流行高峰在 6～7 月，华北地区为 7～8月，东北地区则为 8～9 月，都与各地蚊密度的高峰相一致。

传染源与储存宿主 蚊感染病毒后，在一定的外界气温条件下，经 1～2 周病毒在其唾液腺和肠内增殖后，此时如叮咬猪、牛、羊、马等家畜或禽类，均可引起感染。动物感染后一般只有短暂的病毒血症，并不出现明显症状。但在病毒血症期的动物，则可成为更多蚊感染病毒的传染源。带病毒蚊再叮咬易感的动物而形成蚊→动物→蚊的不断循环。其间若叮咬易感的人则可引起人体感染。国内外研究均表明，幼猪是乙脑病毒传播环节中最重要的中间宿主或扩散宿主。由于蚊体可携带乙脑病毒越冬以及经卵传代，故蚊不仅是传播媒介，还可能是病毒的长期储存宿主。

三、致病性与免疫性

人感染乙脑病毒后，绝大多数表现为隐性或轻型感染，只有少数引起中枢神经系统症状，发生脑炎。

乙脑病毒侵入人体后，可能先在皮下毛细血管壁内皮细胞和局部淋巴结处增殖。少量病毒入血，随血流播散到肝、脾的单核吞噬细胞中继续大量增殖后，导致第二次病毒

四、微生物学检查法

病毒分离 从发病初期患者血液、脑脊液和尸检脑组织中均可分离到乙脑病毒。分离病毒可以用C6/36、BHK-21等传代细胞。阳性结果的判定可用细胞病变、鹅血红细胞吸附试验或乙脑病毒单克隆抗体免疫荧光检测。病毒分离还可用乳鼠脑内接种的方法，但敏感性低于细胞分离法。

病毒抗原检测 免疫荧光和ELISA均可用于发病初期患者血液及脑脊液中乙脑病毒抗原的检测，结果阳性有早期诊断意义。

血清学检查

1. 特异性IgM抗体测定 采用IgM抗体捕获的ELISA法检测患者血清或脑脊液中的特异性IgM抗体，一般在感染后第4d出现，第2～3周达高峰，阳性率可达90%以上。

2. 血凝抑制试验 需采集患者双份血清，两次采血间隔1～2周，抗体效价增高4倍或以上可以确诊；单份血清效价1:320有诊断意义。

3. 补体结合试验 单份血清滴度1:2为可疑，1:4为阳性，1:16以上有诊断价值；双份血清抗体滴度4倍或以上升高可以确诊。因补体结合抗体出现较晚，故不能作为早期诊断用。但因此抗体持续时间不长，故可用于诊断近期感染。

4. 中和试验 本试验的特异性和敏感性均很高，但因中和抗体产生后持续时间很长，试验系统需用大批小鼠或细胞培养，观察周期长，一般用于血清流行病学调查和新分离病毒的鉴定。

五、防 治 原 则

防蚊和灭蚊是预防乙型脑炎的关键。在易感人群中（9个月至10岁以下儿童）大规模进行乙脑疫苗接种，是预防乙脑流行的重要环节。目前普遍使用的主要是灭活疫苗。一般在流行前1～2个月接种，第1年接种2次，间隔7～10d，其后2、3、7、13岁时分别加强接种1次。接种后血清中和抗体阳转率达50%～80%，保护率为60%～90%。通过细胞传代与空斑选育法我国已研制成功以地鼠肾细胞及用乳狗肾细胞为基质的乙型脑炎减毒活疫苗。经动物试验和人体接种证明其安全及免疫效果后，近年对1～15岁儿童进行大规模接种观察，接种后中和抗体的阳转率达85%，并能有效地降低乙型脑炎的发病率。因幼猪是乙脑病毒的主要中间宿主和传染源，若给流行区的幼猪接种疫苗，有可能控制乙脑病毒在猪群及人群中的传播与流行。

第二节 登 革 病 毒

登革病毒（dengue virus）是登革热的病原体。此病是一种由伊蚊传播的急性传染病，于热带、亚热带地区，特别是东南亚、西太平洋、中南美洲有流行。我国近年在广东、海南以及广西等地区均有发生。

生物学特性 登革病毒的形态结构与乙脑病毒相似，分类上属黄病毒属。根据抗原性不同，分为1、2、3、4四个血清型，各型病毒间有抗原性交叉。登革病毒与乙脑病毒和西尼罗病毒亦存在有抗原性交叉。该病毒易在蚊体中增殖，故可用蚊体胸内接种培养，也可用白纹伊蚊的传代细胞（C6/36株）或地鼠肾等哺乳类动物细胞进行培养。初生小鼠对登革病毒敏感，但用3周鼠或成鼠接种病毒则很少出现症状。

致病性与免疫性 在自然界，登革病毒储存于人和猴，通过埃及伊蚊和白纹伊蚊等传播。病毒感染人体后可在毛细血管内皮细胞和单核细胞中增殖，然后经血流播散，引起发热、肌肉和关节酸痛、淋巴结肿胀及皮肤出血、休克等。临床上分为普通型登革热和登革出血热/登革休克综合征二个类型。前者病情较轻，后者病势较重。登革出血热/登革休克综合征通常发生于过去已有登革病毒感染，现再次感染的儿童或成人。发病的严重程度与病人血清中原来存在的登革病毒抗体有密切关系。再次感染的登革病毒又以2型最为多见。有关登革出血热/登革休克综合征的发病机制还未完全清楚。较多学者认为免疫病理反应起重要作用，初次感染登革病毒后诱生的抗体对再次感染的病毒，可发生所谓依赖抗体的促进病毒感染的作用（antibody-dependent enhancement，ADE）或免疫促进作用（immune enhancement）。研究表明，将一定剂量的登革病毒与亚中和浓度的登革病毒抗体混合，用以接种人或猴的单核细胞培养时，病毒的增殖数量明显地要比未加入抗体为高。具有免疫促进作用的同型或异型抗体免疫球蛋白类型为IgG，其Fab段与登革病毒结合。当IgG的Fc段与单核吞噬细胞表面的Fc受体结合时，能明显地促进病毒对细胞的感染并在其中增殖。感染病毒的单核吞噬细胞受病毒特异性T细胞攻击或IL-2、IFN-γ等细胞因子作用时，可被激活而释放肿瘤坏死因子、蛋白酶、凝血激酶和一些血管通透性因子，引起补体C3激活、血小板减少和血管通透性增高，从而引起出血和休克等严重症状。此外，大量登革病毒抗原与抗体在血循环中所形成的免疫复合物，可激活补体系统而引起血管通透性增高，与休克的发生亦有关系。

微生物学检查法 病人发病第1～3d，常呈现病毒血症，病毒滴度亦较高，故可采取病人早期血清接种白纹伊纹C6/36株细胞以分离病毒，亦可经胸内接种巨蚊的成蚊，或脑内接种巨蚊的幼虫，病毒分离的阳性率要比接种乳鼠更高。病人感染1周后血清出现血凝抑制抗体，而补体结合抗体则稍后才出现。一般采集病人早期与恢复期血清，如抗体滴度呈4倍或以上增长，则有诊断意义。近年应用抗体捕获的ELISA法及斑点免疫测定法检测登革热病人血清的特异性IgM抗体，比IgG抗体更早出现，发病第5d抗体阳性率为80%，至第6～10d达99%。

防治原则 登革病毒疫苗尚未研制成功。近年国外虽有报道试用1～4型登革病毒的减毒活疫苗、灭活全病毒疫苗及亚单位疫苗，给少数志愿者接种后无不良反应，并能诱生中和抗体。但研制登革病毒疫苗时，除了考虑疫苗病毒株的免疫原性、安全性和减毒株的遗传稳定性外，还应研究如何防止疫苗接种后诱生的抗体，对再次感染登革病毒时可能产生的免疫促进作用，致使病情反而加剧的问题。

第三节 森林脑炎病毒

森林脑炎病毒又名苏联春夏型脑炎病毒（Russian spring-summer encephalitis virus）是蜱媒脑炎病毒群（tick-borne encephalitis virus complex）成员之一。此病毒引起的森林脑炎，是一种由蜱传播的自然疫源性疾病。最初在苏联东部发现；中欧与德国亦有病例报告。在我国东北和西北的一些林区曾有流行。

森林脑炎病毒形态结构与乙脑病毒近似。分类上同属于黄病毒属。动物感染范围广，小鼠的敏感性最高，多种途径均能感染。在原代鸡胚细胞和地鼠肾传代细胞培养中生长并引起病变。不同来源的毒株，其毒力差异较大，但病毒的抗原性较一致。本病毒与羊跳跃病毒和鄂木斯克出血热病毒的抗原有交叉反应。

森林脑炎是一种中枢神经系统的急性传染病，蜱是传播媒介。病毒在蜱体内增殖，并能经卵传代，也能由蜱携带病毒越冬。所以，蜱亦是此病毒的储存宿主。在自然情况下，由蜱传染森林中的兽类和野鸟，在动物中间循环。易感人群进入林区被蜱叮咬而感染。近年发现此病毒亦可通过胃肠道传播。感染病毒的山羊可通过乳汁排出病毒，摄入带病毒的乳品亦可引起感染。在实验室意外吸入受染病毒的气溶胶亦可引起感染。人感染后经 7～14 天潜伏期突然发病，出现高热、头痛、昏睡、外周型弛缓性麻痹等症状，病死率约 30%。病后免疫力持久。

微生物学诊断方法与乙型脑炎病毒相似。此病的预防应以灭蜱和防蜱叮咬为重点，尤其在林区工作者应采取措施做好个人防护。目前在我国林区使用的灭活组织培养疫苗，第一年接种 3 次，以后每年加强免疫 1 次，已证明安全有效。减毒活疫苗正在研制中。

（郭辉玉）

第31章　出血热病毒

引起出血热的病原体在分类上包括多种不同的病毒（表31-1）。在我国已发现的有汉坦病毒、新疆出血热病毒和登革病毒。

表31-1　人类出血热病毒分类

病毒类属	病　毒	媒　介	疾　病	分　布
布尼亚病毒科	汉坦病毒	啮齿动物	肾综合征出血热	亚洲、欧洲、美洲、非洲
	新疆出血热病毒	蜱	新疆出血热	中国新疆
	Rift 山谷热病毒	蚊	Rift 山谷热	非洲
黄病毒科	登革病毒	蚊	登革出血热	东南亚、南美
	黄热病病毒	蚊	黄热病	非洲、南美
	Kyasanur 森林热病毒	蜱	Kyasanur 森林热	印度
	Omsk 出血热病毒	蜱	Omsk 出血热	西伯利亚
披膜病毒科	Chikungunya 病毒	蚊	Chikungunya 热	非洲、东南亚
沙粒病毒科	Lassa 病毒	啮齿动物	Lassa 热	西非
	Junin 病毒	啮齿动物	阿根廷出血热	南美
	Machupo 病毒	啮齿动物	玻利维亚出血热	南美
线状病毒科	Marburg 病毒	未确定	Marburg 热	非洲、欧洲
	Ebola 病毒	未确定	Ebola 热	非洲

第一节　汉坦病毒

汉坦病毒（hantavirus）是布尼亚病毒科（Bunyaviridae）的一个新属。根据其抗原性及基因结构特征的不同，目前至少可区分为6个型。（表31-2）。其中汉滩病毒、多布拉伐-贝尔格莱德病毒、汉城病毒和普马拉病毒为肾综合征出血热（hemorrhagic fever with renal syndrome，HFRS）的病原，辛诺柏病毒、黑港渠病毒及囚犯港病毒为汉坦病毒肺综合征（hantavirus pulmonary syndrome，HPS）的病原。汉坦病毒的名称来自此病

毒属的原型汉滩病毒（hantaan virus）。该病毒最先在1978年从韩国汉滩河附近流行性出血热疫区捕获的黑线姬鼠中分离出。为区别属及型的名称，在中译名上分别称为“汉坦病毒”与“汉滩病毒”。

表31-2 汉坦病毒的型别

病毒型	原始宿主	人类疾病	地理分布
汉滩病毒（Hantaan virus）	黑线姬鼠	HFRS（重）	亚洲东部、欧洲东部
多布拉伐-贝尔格莱德病毒（Dobrava-Belgrade virus）	黄颈姬鼠	HFRS（重）	欧洲东部（巴尔干半岛）
汉城病毒（Seoul virus）	褐家鼠	HFRS（中）	亚洲东部、世界各地海港
普马拉病毒（Puumala virus）	棕背鮃	HFRS（轻）	欧洲北部、东部
辛诺柏病毒（Sin Nombre virus）	鹿鼠	HpS	美国西南部、西部
希望山病毒（Prospect Hill virus）	田鼠	不详	美国

一、生物学性状

形态与结构 病毒呈圆形、椭圆形或多形态性，平均直径约120nm（图31-1）。核酸类型为单负链RNA，有L、M、S三个片段，分别编码病毒的RNA多聚酶（L）、糖蛋白（G1、G2）和核壳体蛋白（N）（图31-2）。G1、G2上均存在血凝素抗原和中和抗原决定簇，构成病毒最外层包膜表面镶嵌的刺突。其凝集鹅红细胞的活性在pH6.0～6.4范围最强。

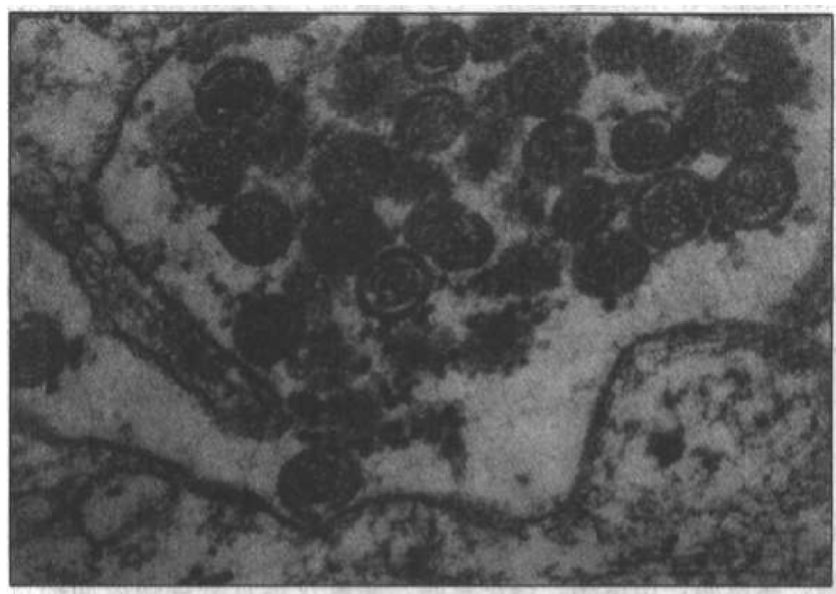


图31-1 汉坦病毒

×200000

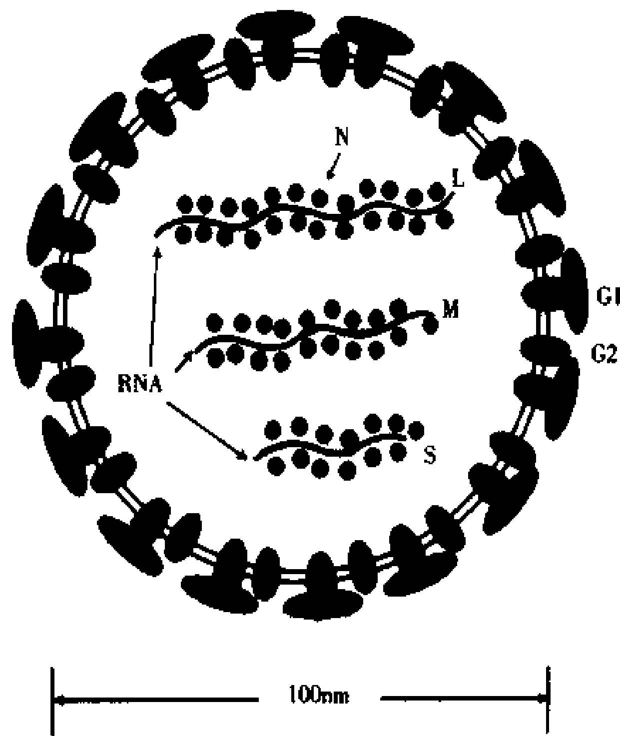


图 31-2 汉坦病毒的结构模式图
L、M、S 为基因片段
G_1、G_2 为包膜糖蛋白
N 为核蛋白

培养特性 病毒可在人肺传代细胞（A_{549}）、非洲绿猴肾细胞（Vero-E6）、人胚肺二倍体细胞（2BS）及地鼠肾细胞中增殖，但一般不引起明显的细胞病变。常用免疫荧光法测定感染细胞胞质内的病毒抗原。电子显微镜下可见汉滩病毒在感染细胞质内形成的独特包涵体。包涵体由病毒核壳蛋白构成，并含病毒 RNA。

易感动物有多种，如黑线姬鼠、长爪沙鼠、大鼠、乳小鼠和金地鼠等。实验感染后在鼠肺、肾等组织中可检出大量病毒。

抗原分型 从血清学反应上，汉坦病毒与布尼亚病毒科的其他三个属以及其他出血热病毒无关。不同地理位置及不同动物宿主分离的汉坦病毒的基因核苷酸序列和抗原性有差异。据此可将汉滩病毒分为 14 个不同的型别。与人类疾病关系密切的 6 个病毒型的流行地区，原始宿主和所致疾病如表 31-2。在我国流行的是汉滩病毒和汉城病毒。

抵抗力 病毒对脂溶剂敏感，对酸（<pH3）、热的抵抗力弱，60℃ 1h 被灭活。

二、流行环节

HFRS 与 HpS 均有明显的地区性和季节性，与多种宿主鼠类的分布和活动有关。已证明姬鼠属、家鼠属、田鼠属、白足鼠属、鹿鼠及棕背鼯等啮齿动物自然携带病毒，是人群 HFRS 与 HpS 的传染源。携带病毒的动物宿主通过排泄物（尿、粪）、分泌物（唾液）及其所形成的气溶胶污染环境而传播。人或动物经皮肤伤口接触，呼吸道和消化道感染。我国已证实几种厉螨和小盾纤恙螨不仅是传播媒介，亦是储存宿主，在自然

疫源地的保存上有重要意义。

三、致病性与免疫性

汉坦病毒有独特的组织嗜性与致病性，表现为对毛细血管内皮细胞及免疫细胞有较强的嗜性和侵袭力。汉滩病毒、汉城病毒、普马拉病毒和多布拉伐-贝尔格莱德病毒引起以高热、出血、肾脏损害和免疫功能紊乱为突出表现的 HFRS。辛诺柏病毒和黑港渠病毒则引起以双侧肺弥漫性浸润、间质水肿并迅速发展为呼吸窘迫、衰竭为特征的 HpS，病死率较高。

HFRS 患者感染后抗体出现早，发病第 2d 即可测出血清 IgM 抗体，第 7～10d 达高峰。IgG 抗体在第 3～4d 出现，第 10～14d 达高峰，可持续多年。故病后可获持久免疫力。汉坦病毒的隐性感染率较低，正常人群血清抗体阳性率在姬鼠型疫区为 1%～3%，在家鼠型疫区平均为 8%～9%。

四、微生物学检查法

病毒分离与抗原检测 病人急性期血清、尸检病死者脏器和感染动物的肺、肾等组织，均可用于病毒分离和抗原检测。常用 Vero-E6 细胞、A_{549}细胞分离病毒。通过免疫荧光抗体染色，检查细胞胞质内的病毒抗原。黑线姬鼠、大鼠或初生乳鼠接种标本后，在肺组织中可检查特异性病毒抗原。但应用动物分离时，应十分注意感染动物的高度传染性，宜采取严格隔离措施，防止发生实验室感染。

血清学诊断 用感染病毒的鼠肺抗原涂片或细胞培养抗原片，进行免疫荧光染色法，可检查病人血清中的病毒特异性 IgM 或 IgG 抗体。单份血清 IgM 抗体阳性或双份血清 IgG 抗体效价呈 4 倍或以上增高者，均有诊断意义。应用抗体捕获的 ELISA 法检测特异性 IgM，其敏感性与特异性均高，适用于早期诊断。

五、防 治 原 则

近年国外许多实验室研制汉坦病毒疫苗。最近我国研制成功 3 种灭活疫苗：①家鼠型病毒金黄地鼠肾细胞培养灭活疫苗；②姬鼠型病毒长爪沙鼠肾细胞培养灭活疫苗；③纯化鼠脑灭活疫苗。经大量人群接种观察结果表明，两种细胞培养灭活疫苗的免疫效果良好，接种反应率低，免疫后血清中和抗体的阳转率达 92%，保护率为 93%～97%。同时预防家鼠型及姬鼠型病毒感染的双价汉坦病毒灭活疫苗正在研制中。

第二节 新疆出血热病毒

此病毒是从我国新疆塔里木盆地出血热病人的血液、尸体的肝、脾、肾，以及在疫区捕获的硬蜱中分离到。分类上属于布尼亚病毒科内罗病毒属（Nairovirus）的克里米亚-刚果（Crimean-Congo）出血热病毒血清组。

病毒呈圆形或椭圆形，直径 90～120nm，病毒结构、培养特性和抵抗力与汉坦病毒

相似，但抗原性，传播方式、致病性却不相同。

新疆出血热是一种自然疫源性疾病，主要分布于有硬蜱活动的荒漠牧场，野生啮齿动物如子午砂鼠、长耳跳鼠、塔里木兔，以及绵羊、山羊、骆驼、牛、马等家畜，是主要的脊椎动物宿主。亚洲璃眼蜱（*Hyalomma asiaticum*）是该病毒的传播媒介，亦是储存宿主。初步证实病毒可经卵传递。

本病发生有明显的季节性，每年4～5月蜱大量增殖，也是发病的高峰。人体被带毒硬蜱叮咬而感染。临床表现为发热、全身疼痛、中毒症状和出血。病后免疫力巩固。

我国已研制成功精制的灭活乳鼠脑疫苗，该疫苗安全，但其预防效果尚待确定。

（郭辉玉）

第32章　疱疹病毒

疱疹病毒科（Herpesviridae）是一群中等大小、有包膜的DNA病毒。现已发现110种以上。根据其生物学特性又分为3个亚科：α疱疹病毒（如单纯疱疹病毒、水痘-带状疱疹病毒）能迅速增殖，引起细胞病变，宿主范围广，可在感觉神经节内建立潜伏感染；β疱疹病毒（如巨细胞病毒）宿主范围较窄，生长周期较长，可引起感染细胞形成巨细胞，能在唾液腺、肾和单核吞噬细胞系统中建立潜伏感染；γ疱疹病毒（如EB病毒），宿主范围最窄，感染的靶细胞主要是B细胞，病毒可在细胞内长期潜伏。与人类感染有关的疱疹病毒及其所致疾病见表32-1。

表32-1　人类疱疹病毒的种类及其所致的主要疾病

病　　毒	所致疾病
单纯疱疹病毒Ⅰ型（人疱疹病毒1型）	龈口炎、唇疱疹、角膜结膜炎、脑炎、甲沟炎
单纯疱疹病毒Ⅱ型（人疱疹病毒2型）	生殖器疱疹、新生儿疱疹
水痘-带状疱疹病毒（人疱疹病毒3型）	水痘、带状疱疹、肺炎、脑炎
EB病毒（人疱疹病毒4型）	传染性单核细胞增多症，多克隆B淋巴细胞淋巴瘤、X染色体相关性淋巴细胞综合征、Burkitt淋巴瘤（?）、鼻咽癌（?）
巨细胞病毒（人疱疹病毒5型）	巨细胞包涵体病、输血后传染性单核细胞增多症、先天性畸形、肝炎、间质性肺炎、视网膜炎
人疱疹病毒6型	婴儿急疹、幼儿急性发热病、间质性肺炎、骨髓抑制
人疱疹病毒7型	未确定
人疱疹病毒8型	Kaposi肉瘤
猿猴B病毒	脑炎

疱疹病毒的特点有：

1. 病毒呈球形，病毒核衣壳由162个壳微粒组成的立体对称20面体，直径约为120nm。其内是由线性双链DNA组成的核心。核衣壳周围有一层厚薄不等的非对称性披膜。最外层是病毒的包膜，其表面的刺突由病毒编码的糖蛋白组成。有包膜的成熟病毒体直径为120～300nm（图32-1）。

2. 除EB病毒外，人疱疹病毒均能在人二倍体细胞核内复制，产生明显的细胞病变，核内有嗜酸性包涵体。病毒可通过细胞间桥直接扩散。感染细胞同邻近未感染的细

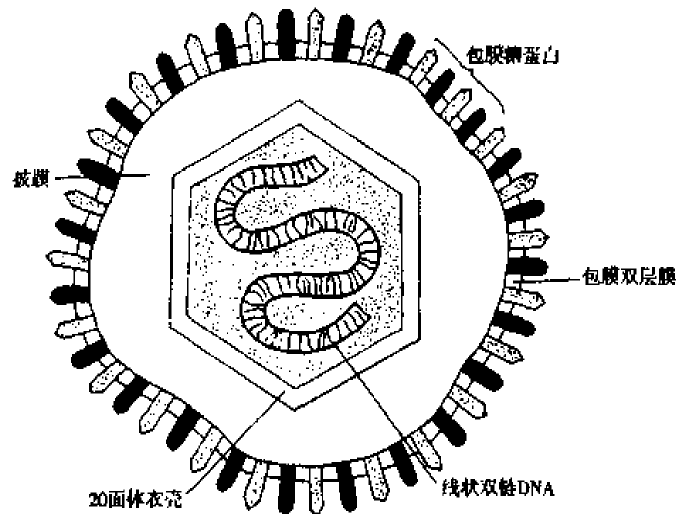


图 32-1　疱疹病毒结构模式图

胞融合，形成多核巨细胞。

3．病毒感染宿主细胞可表现为增殖性感染和潜伏性感染。前者病毒增殖并引起细胞破坏；后者病毒不增殖，病毒 DNA 稳定地持续于细胞核内。病毒基因组的表达受抑制，直到受刺激因素激活后又可转为增殖性感染。

第一节　单纯疱疹病毒

一、生物学性状

单纯疱疹病毒（herpes simplex virus，HSV）的基因组由两个互相接连的长片段（L）和短片段（S）双链线状 DNA 组成。L 和 S 的两端均有一小段反向重复序列；L 和 S 又可以正向或反向方式互相接连，因此 HSV 基因组可形成 4 种异构体。

HSV 能在多种细胞中增殖，常用原代兔肾、人胚肺、人胚肾细胞或地鼠肾等传代细胞分离培养病毒。感染细胞很快发生病变，细胞肿胀、变圆、出现嗜酸性核内包涵体。

HSV 对动物的感染范围较广。常用的实验动物有家兔、豚鼠、小鼠等。注射途径不同，感染类型亦不一样。如脑内接种引起疱疹性脑炎、角膜接种引起树枝状疱疹性角膜炎。

HSV 有两种血清型：HSV-1 和 HSV-2。两型病毒的 DNA 有 50％同源性。HSV 病毒体中有 10 种包膜糖蛋白，分别称为 gB、gC、gD、gE、gG、gH、gI、gJ、gL 和 gM。其中的 gG 为型特异性抗原，以此可将两型 HSV 进行区别。gB 和 gD 与病毒的吸附有关，gD 诱导产生中和抗体的能力最强，因而是研制亚单位疫苗的最佳选择。HSV-1 与 HSV-2 除用抗原性区分外，还可根据两型病毒的 DNA 内切酶图谱、在不同细胞中的增殖能力、对温度敏感性以及对溴乙烯脱氧尿苷（BVDU）抗性的差异进行分型。

二、致病性与免疫性

人群中HSV感染非常普遍。病人和健康带毒者是传染源。直接密切接触与性接触为主要传播途径，亦可经飞沫传染。病毒经口腔、呼吸道和生殖器粘膜以及破损皮肤侵入人体。人感染HSV后大多无明显症状，最常见的临床表现是粘膜或皮肤的局部疱疹，偶尔也可产生严重甚至致死的全身性感染。

原发感染 半岁以后的婴儿，因来自母体的抗体多数消失，此时容易发生HSV-1的原发感染。HSV-1最常引起龈口炎，在牙龈、咽颊部粘膜产生成群疱疹，疱疹破裂后形成溃疡，病灶内含大量病毒。此外，还可引起疱疹性角膜结膜炎、皮肤疱疹性湿疹、疱疹性甲沟炎或疱疹性脑炎。HSV-2的原发感染多起于性生活后，主要引起生殖器的疱疹病损。原发性生殖器疱疹，约80%由HSV-2引起，少数由HSV-1所致。

潜伏与再发感染 HSV原发感染后，机体迅速产生特异性免疫力而康复，但不能彻底消除病毒，病毒以潜伏状态长期存在宿主体内而不引起临床症状。研究表明，神经节中的神经细胞，是病毒潜伏的场所。HSV-1潜伏于三叉神经节和颈上神经节；HSV-2潜伏于骶神经节。当人体受到各种非特异性刺激，如发热、寒冷、日晒、月经、某些细菌或病毒感染，或使用肾上腺皮质激素等，潜伏的病毒被激活，转为增殖性感染。此时病毒沿感觉神经纤维轴索下行到末梢而感染邻接的粘膜或皮肤上皮细胞，进行增殖而引起复发性局部疱疹。

HSV原发感染后1周左右，血中出现中和抗体，3～4周达高峰，可持续多年。这些抗体可中和游离病毒，阻止病毒在体内扩散，但不能消除隐伏于神经节中的病毒和阻

四、防治原则

对HSV感染的控制目前尚无特异性方法。避免同患者接触可减少感染机会，但正常无症状带毒者的唾液、阴道分泌物中有时也有病毒排出。医护人员处理有传染性的病人组织或体液时应戴手套以防止被感染或散布传染。患有生殖器HSV-2感染的病人，应教导他们克制性生活直至生殖器病损彻底愈合为止。如孕妇产道发生HSV-2感染，剖腹产是预防新生儿疱疹感染的有效方法之一。

在几种抗疱疹病毒的化疗药物中，碘苷、阿糖胞苷等滴眼，对疱疹性角膜炎有较好疗效。近年应用无环鸟苷（acyclovir，ACV）对HSV有抑制作用。ACV的抗病毒机制是它很易被HSV编码的胸苷激酶磷酸化，形成ACV-MP，再被细胞酶作用而形成ACV-TP。ACV-TP与dGTP竞争而抑制病毒DNA合成。ACV的毒性低，对生殖器疱疹、疱疹性脑炎、免疫缺损病人的复发性疱疹及播散性疱疹有良好的疗效，但仍不能彻底防止潜伏感染的再发。

第二节　水痘-带状疱疹病毒

一、生物学性状

水痘-带状疱疹病毒（varicella-zoster virus，VZV）的基本特性与HSV相似。此病毒只有一个血清型。病毒在儿童初次感染时引起水痘，潜伏多年后，在成人或老年人中复发则表现为带状疱疹，故称为水痘-带状疱疹病毒。

一般实验动物及鸡胚对VZV均不敏感。病毒只在人胚成纤维细胞中增殖并缓慢地产生局灶性细胞病变，受染细胞出现嗜酸性核内包涵体和多核巨细胞。

二、致病性与免疫性

人是VZV的唯一自然宿主，皮肤是病毒的主要靶细胞。VZV经呼吸道侵入人体，无免疫力的儿童初次感染后，约经2周潜伏期全身皮肤出现斑丘疹、水疱疹，可发展为脓疱疹。皮疹分布呈向心性，躯干比面部和四肢要多。水痘病情一般较轻，只偶有并发病毒性脑炎或肺炎。但在细胞免疫缺陷，白血病或正在接受皮质激素、细胞毒药物治疗的病儿，则常易得重症水痘。成人首次感染VZV者，常发生病毒性肺炎，一般病情较重，病死率亦较高。孕妇患水痘的表现亦较严重，并可引起胎儿畸形、流产或死产。

带状疱疹仅发生于过去有水痘病史的人，成人和老人多发。儿童在水痘病愈后，病毒能长期潜伏于脊髓后根神经节或颅神经的感觉神经节中。中年以后，当机体细胞免疫力下降，以及接受放射治疗、器官或骨髓移植，患白血病或淋巴瘤时，潜伏在神经节细胞中的病毒基因组被激活，沿感觉神经轴索到达所支配的胸腹或脸部皮肤细胞内增殖、引起复发。由于疱疹沿感觉神经支配的皮肤分布，串联成带状，故称带状疱疹。

三、微生物学检查法

水痘和带状疱疹的临床症状都较典型，一般可不依赖实验室诊断。必要时可从疱疹基底部取材进行涂片染色，检查嗜酸性核内包涵体，或用单克隆抗体免疫荧光染色法检查 VZV 抗原，有助于快速诊断。

四、防 治 原 则

应用 VZV 减毒活疫苗，免疫接种 1 岁以上未患过水痘的儿童和成人，可以有效地预防水痘感染和流行。应用含特异性病毒抗体的人免疫球蛋白给免疫抑制病人注射，对预防或减轻 VZV 感染有一定效果。无环鸟苷、泛昔洛韦及大剂量的干扰素，能限制水痘和带状疱疹的发展和缓解局部症状。

第三节　巨细胞病毒

一、生物学性状

巨细胞病毒（cytomegalovirus，CMV）的形态与基因组结构与 HSV 极为相似，但病毒感染的宿主范围和细胞范围均狭窄。种属特异性高，即人 CMV 只能感染人。在体内，人 CMV 可感染各种不同的上皮细胞、白细胞和精子细胞等；但在体外人 CMV 只有在人成纤维细胞中才能增殖。病毒在细胞培养中增殖缓慢，复制周期长。初次分离时常需经 2～6 周才出现细胞病变，其特点是细胞肿胀、核变大，形成巨大细胞，核内有密致的嗜硷性包涵体，其外有一晕轮围绕，宛如“猫头鹰眼”状（图 32-2）。

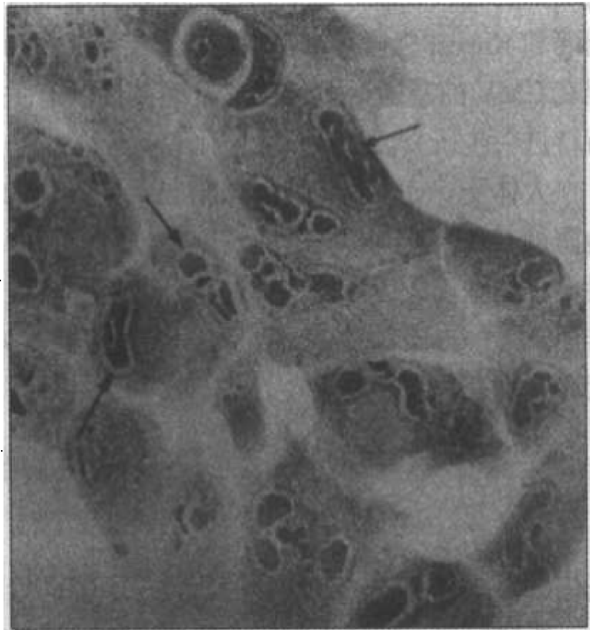


图 32-2　巨细胞病毒感染人胚成纤维细胞
箭头所指为核内包涵体　×400

二、致病性与免疫性

人群中 CMV 感染非常广泛，初次感染大多在 2 岁以下，通常呈隐性感染，少数有临床症状。60%～90%成人已有 CMV 抗体。人感染后虽产生抗体，但多数可长期带毒成为潜伏感染。潜伏部位常在唾液腺、乳腺、肾、白细胞或其他腺体中，病毒可长期或间歇地自唾液、乳汁、尿液、精液或宫颈分泌物中排出，通过口腔、产道、胎盘、哺乳、输血、器官或骨髓移植等多种途径传播。

先天性感染 孕妇发生原发性或复发性CMV感染时，病毒可通过胎盘侵袭胎儿，引起子宫内感染。发生率为0.5%～2.5%，其中5%～10%引起临床症状。孕妇原发感染造成胎儿感染的危险性要比复发感染为高，病情亦较重。初生的病儿发生黄疸、肝脾肿大、血小板减少性紫癜、溶血性贫血和不同程度的神经系统损害，包括小脑畸形、脉络膜视网膜炎、视神经萎缩等，重者可致流产或死产。部分病儿可于出生后数月至数年才出现耳聋和智力发育低下等症状。

围产期感染 隐性感染的孕妇，在妊娠后期，CMV可被激活而从泌尿道和宫颈排出。因此，在分娩时婴儿经产道亦可受到感染。

接触感染 唾液、乳汁、尿、精液和宫颈分泌物中存在CMV，通过密切接触如接吻、性交、哺乳等方式而传染。

输血感染 输入大量含有CMV的新鲜血液，可发生输血后的单核细胞增多症和肝炎等病症。这种感染与由EB病毒所致的传染性单核细胞增多症不同，病者血象虽可见不典型的淋巴细胞增多，但其血清中的异嗜性抗体和EB病毒的EA抗体均为阴性。

免疫功能低下病人的感染 肾移植、骨髓移植、艾滋病、白血病、淋巴瘤等病人，由于机体免疫功能低下，或长期用免疫抑制治疗，致使体内潜伏的CMV被激活，易发生肺炎、视网膜炎、食管炎、结肠炎和脑膜脑炎。

细胞转化与致癌潜能 一些实验证明，CMV基因组的DNA片段，在体外可以转化地鼠胚和人胚成纤维细胞。用其接种裸鼠可形成肿瘤。近年在宫颈癌、前列腺癌、结肠癌和Kaposi肉瘤等组织中亦检出CMV的DNA序列，提示CMV具有潜在致癌能力。但在CMV的基因组中未发现有癌基因。有关CMV的潜在致癌作用尚缺乏直接证据，有待进一步研究证实。

人体受CMV感染后，都能产生特异性的IgM、IgG、IgA类抗体，但并不能有效地防御CMV感染。机体的细胞免疫功能，特别是MHCI类分子限制性CD_8^+的细胞毒性淋巴细胞反应，以及NK细胞毒活性，对限制CMV感染的发生和发展有十分重要的作用。另一方面，CMV感染本身又可抑制机体的细胞免疫应答，对疾病加剧和病毒持续存在均有重要影响。

三、微生物学检查法

细胞学检查 尿标本经离心后取沉渣涂片，姬姆萨染色镜检，观察巨大细胞及细胞核内的典型包涵体。方法简便，可用于辅助诊断。

病毒分离 取病人的尿、唾液、生殖道分泌物，或白细胞等标本，接种人胚成纤维细胞，培养4～6周以观察细胞病变。采用离心法使病毒吸附于单层细胞，结合用单克隆抗体免疫荧光染色检测CMV的早期抗原，可于培养后第2d得到阳性结果。

核酸杂交和PCR法检测病毒DNA 近年用标记DNA探针核酸杂交法，以及用CMV特异的寡核苷酸引物PCR法检测CMV的DNA，其阳性检出率明显高于细胞培养。

抗原检测 最近应用人CMV编码蛋白的特异性单克隆抗体，直接检测临床标本

(外周血白细胞、活检组织、支气管肺泡灌洗液等）中人 CMV 的晚期结构抗原 (pp65)，用于人 CMV 活动性感染的早期快速诊断。此法亦可用于人 CMV 抗原血症的定量检测，按每 10^5 个外周血中性粒细胞中 IEA 阳性细胞数为＜10、10～50、＞50 个分别定为低、中、高的抗原血症水平，作为监测免疫抑制病人活动性人 HCMV 感染和抗病毒药物疗效观察的指标。

血清学诊断 近年应用 ELISA 检测 CMV 的 IgM 抗体，可以帮助诊断 CMV 的近期感染。由于 IgM 不能从母体经胎盘传给胎儿，若从新生儿血清中检出 CMV 的 IgM 抗体，可表示胎儿在子宫内时有 CMV 感染。

四、防 治 原 则

临床试用碘苷、阿糖腺苷、阿糖胞苷、无环鸟苷以及干扰素治疗 CMV 感染，无明显效果。最近应用抑制病毒 DNA 多聚酶的丙氧鸟苷（ganciclovir，GCV）与膦甲酸 (foscarnet) 治疗免疫抑制病人发生的严重 CMV 感染有效，尤其适用于肾移植和骨髓移植患者，以及对艾滋病患者并发的 CMV 感染作预防性治疗。

近年国外研制两种 CMV 减毒活疫苗（AD169 与 Towne125），在高危人群中试用证明其安全性，并对肾移植引起的严重 CMV 疾病有一定保护作用。但关于如何排除这种活疫苗的致癌潜能问题仍未完全解决。应用 CMV 包膜糖蛋白研制不含病毒 DNA 的亚单位疫苗或基因工程疫苗，是目前国内外研究的方向。

第四节　EB　病　毒

EB 病毒（Epstein-Barr virus，EBV）是 1964 年 Epstein 和 Barr 在研究非洲儿童的恶性淋巴瘤的病因时，从瘤细胞培养中发现的一种新病毒。电镜下其形态结构与疱疹病毒相似，但抗原性却不相同（图 32-3)。

一、生物学性状

EBV 缺乏良好的体外培养系统，不能用常规的疱疹病毒培养方法培养。一般用人脐血淋巴细胞，或用从外周血分离的 B 淋巴细胞培养 EBV。

EBV 特异性抗原

由 EBV 基因组不同片段编码的病毒特异性抗原可分为两类：

1. 病毒潜伏感染时表达的抗原，包括：

(1) EBV 核抗原（EB nuclear antigen，EBNA)：所有 EBV 感染和转化的 B 细胞核内，都可以检出这种核抗原。已知共 6 种，其中的 EBNA-1 与 EBV 基因组以环状附加体（episome）形式持续存在于潜伏感染的细胞内有关；EBNA-2 与诱导 LMP 和 CD_{23}合成有关。

(2) 潜伏感染膜蛋白（latent membrane protein，LMP)：是潜伏感染 B 细胞出现的膜抗原。其中 LMP-1 是诱导 B 细胞转化的主要因子；LMP-2 是细胞酪氨酸激酶的底

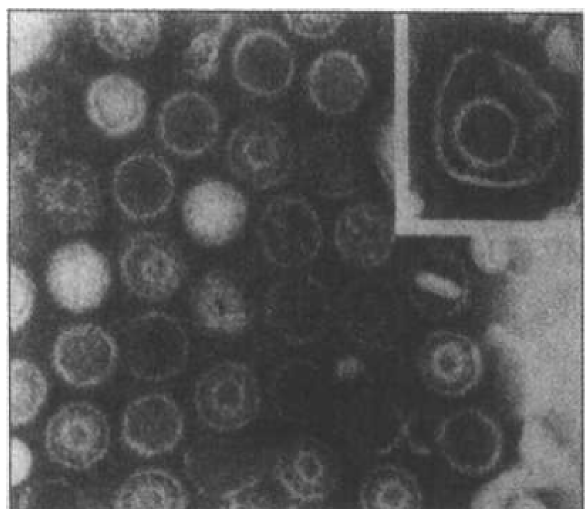


图 32-3 EB病毒

1. 核心 2. 衣壳 ×100000

3. 披膜 4. 包膜 ×200000

物，在潜伏感染及细胞恶变中的作用尚未清楚。

2. 病毒增殖性感染相关的抗原，包括：

(1) EBV 早期抗原（early antigen，EA)：是病毒增殖早期诱导的非结构蛋白，分为 EA/R 和 EA/D，后者具有 EBV 特异的 DNA 多聚酶活性。EA 出现是 EBV 活跃增殖，感染细胞进入溶解性周期的标志。

(2) EBV 衣壳抗原（viral capsid antigen，VCA)：是在病毒增殖后期合成的结构蛋白，存在于胞质和核内。VCA 与病毒 DNA 组成 EBV 的核衣壳，最后在核膜出芽获得包膜装配成完整病毒体。

(3) EBV 膜抗原（membrane antigen，MA)：是 EBV 的中和性抗原，其中的糖蛋白 gp320/220 能诱导生成中和抗体。

EBV 与宿主细胞的相互关系

EBV 是一种嗜 B 细胞的人疱疹病毒，主要侵犯 B 细胞。过去认为，只有 B 细胞表面有 EBV 受体，但最近发现在腮腺管、咽部以及宫颈外的某些上皮细胞亦有 EBV 受体。因此 EBV 亦可感染上皮细胞。

EBV 在 B 细胞中可引起两种形式的感染：

1. 增殖性感染　EBV 感染 B 细胞后，仅极少一部分细胞中的病毒基因能充分地表达。首先合成 EA 等病毒早期基因产物，接着是 DNA 复制、VCA 和 MA 合成，最后组合成完整的病毒颗粒而释放。此时细胞亦随之发生溶解或死亡。

2. 非增殖性感染

(1) 潜伏感染：EBV 感染 B 细胞后，多数细胞中的病毒基因组处于潜伏状态，此时细胞只合成 EBNA 和 LMP。带有 EBV 基因组的 B 细胞，可获得在组织培养中维持长期生长和增生的能力。这一过程称为“转化”（transformation）或“永生化”（immortalization)。在一定条件或某些诱导因子的作用下，潜伏感染细胞中的 EBV 基因组被激活而表达，转为增殖性感染。EBV 引起的细胞转化和多种疾病，与病毒的“感染-潜伏-激活”机制有密切关系。

(2) 恶性转化：受 EBV 感染和转化的 B 细胞，在不断分裂与增殖过程中，受到某些辅助因子的促发，个别细胞可发生染色体易位等异常变化，最后导致这些细胞转化为恶性肿瘤细胞。

二、致病性与免疫性

EBV在人群中感染非常普遍。我国3～5岁儿童的EBV IgG/VCA抗体阳性率达90%以上。幼儿受染后多数无明显症状，或引起轻度咽炎和上呼吸道感染。青春期发生原发感染，约有50%出现传染性单核细胞增多症。病毒主要通过唾液传播，偶亦可藉输血传染。感染后病毒可能先侵犯口咽部如腮咽管一些上皮细胞并在其中形成增殖性感染。病毒可从口咽部排出达数周至数月。口咽部上皮细胞释放出的EBV感染局部粘膜的B细胞，后者进入血循环而造成全身性EBV感染。

原发感染后，机体产生的特异性中和抗体和细胞免疫，虽能防止外源性再感染，但不能完全清除潜伏在细胞中的EB病毒。在体内潜伏或呈低度增殖的病毒与宿主保持相对平衡状态。少量的EBV在口咽部继续发生低滴度的增殖性感染。在血循环和淋巴组织中只能检出极少数感染病毒的B细胞。这种持续感染状态可保持终身。

与EB病毒感染有关的疾病主要的有三种：

传染性单核细胞增多症 在青春期初次感染较大剂量的EBV者可发病。其临床特点是发热、咽炎、淋巴结炎、脾肿大、肝功能紊乱以及外周血单核细胞和异型淋巴细胞显著增多。异型淋巴细胞具有T细胞特征，包括：①对EBV抗原反应的T细胞，②抑制性T细胞（Ts）和③细胞毒性T细胞（CTL)。其作用是杀伤细胞膜上有EBV抗原表达的B细胞，控制B细胞受EBV诱导而发生的多克隆性激活，对限制EBV感染和促进疾病的恢复起重要作用。

非洲儿童恶性淋巴瘤 又称Burkitt淋巴瘤（BL)，多见于6～7岁的儿童，发生于非洲中部和新几内亚某些热带雨林地区。儿童在发病前已受到EB病毒的重度感染。所有BL病儿的EBV抗体均比正常儿童为高。从BL的活检组织及由其建立的淋巴瘤细胞，可检出EBV的DNA和EBNA。据此认为EBV感染与BL发生有关系。

关于EBV在BL的发生过程中，究竟是直接致癌，抑或是促癌因素？还未完全清楚。目前认为，在非洲BL高发区的婴幼儿受EB病毒感染后，病毒转化的B淋巴细胞有少数可发生染色体易位（t8:4，t2:8，t8:22)，结果使某些细胞癌基因（如C-myc）的表达增多，进一步发生恶性转化，不断克隆扩增而发展为BL。在高发区中高度流行的疟疾感染所引起的免疫抑制，使新生的BL细胞能逃脱机体的免疫监视作用，亦是BL发生的一个重要辅助因素。

EBV与鼻咽癌 鼻咽癌是广东、广西和湖南等地的一种常见的恶性肿瘤，好发于40岁以上的中老年人。流行病学研究表明，鼻咽癌的发生与遗传易感性和一些环境因素有密切关系。国内外学者对鼻咽癌的EBV病因进行了大量研究。发现世界各地几乎所有鼻咽癌活检组织中，均可检出EBV的DNA和EBNA；鼻咽癌病人血清中含有较高滴度的EBV特异的VCA-IgA或EA-IgA抗体；有些病人在鼻咽粘膜尚未发生恶变前已经查出这些抗体；鼻咽癌经治疗后病情好转者，这些抗体滴度亦逐渐下降。

由于EBV在人群中感染极普遍，许多人在幼年时期受EBV感染后，病毒在体内可潜伏终身，而只有极少数人于多年后才发生鼻咽癌。因此关于EBV是鼻咽癌的致病因

子、辅助致癌因子，或只是致癌过程中的“过客”病毒？这些问题尚未完全解决。进一步研究鼻咽癌细胞中EBV的基因表达，特别是与恶性变过程中的转化蛋白（如LMP-1)，以及调控病毒基因表达的病毒和（或）细胞因素，将有助于阐明EBV与鼻咽癌发生的关系。

三、微生物学检查法

EBV的分离培养较困难，一般用血清学方法作辅助诊断。在有条件的实验室，亦可用原位核酸杂交法或PCR法检查标本细胞中的EBV-DNA，或用抗补体免疫荧光法检查细胞中的EBNA，以证明是否存在EBV感染。

EBV特异性抗体的检测 多用免疫酶染色法或免疫荧光法，用于检测病毒VCA-IgA抗体或EA-IgA抗体，抗体滴度为≥1:5～1:10或滴度持续上升者，对鼻咽癌有辅助诊断意义。

异嗜性抗体的检测 主要用于传染性单核细胞增多症的辅助诊断。病人在发病早期，血清中出现一种IgM型抗体，能非特异地凝集绵羊红细胞。抗体滴度在发病3～4周内达高峰，于恢复期迅速下降，不久即消失。抗体滴度超过1:80时有诊断意义。少数正常人和血清病患者的血清也含有此抗体，但血清病患者的异嗜性抗体能被牛红细胞和豚鼠肾组织所吸收，正常人血清的异嗜性抗体一般不被牛红细胞吸收，而被豚鼠肾组织吸收。传染性单核细胞增多症的异嗜性抗体仅被牛红细胞吸收；而不被豚鼠组织所吸收。

四、防 治 原 则

国外试验研制EBV疫苗，以预防传染性单核细胞增多症，并考虑用于非洲儿童恶性淋巴瘤的免疫预防。例如应用单克隆抗体亲和层析法纯化EBV包膜的糖蛋白gp340，制成亚单位疫苗，用以免疫棉顶绒猴，能诱生中和抗体，并能保护动物抵御由接种EBV所诱生的淋巴瘤。最近国内应用痘苗病毒为载体，构建能表达EBV膜抗原的基因工程疫苗，给婴幼儿及学龄儿童接种后，能产生具有中和活性的EBV MA抗体。目前此疫苗的免疫保护效果正在观察中。

第五节 人疱疹病毒6型、7型与8型

一、人疱疹病毒6型

1986年美国报告从6例淋巴增生性疾病的外周单个核细胞分离到一种新的病毒。这种病毒的形态结构与疱疹病毒科的其他成员相似，但分子病毒学和免疫学研究则显示它与HSV、VZV、CMV和EBV均不相同，故命名为人疱疹病毒6型（human herpesvirus-6，HHV-6)。根据病毒DNA的限制性核酸内切酶分析、核苷酸序列分析、对单克隆抗体的反应性，以及对$CD8^+$ T细胞、NK细胞和某些传代细胞的易感性，可将病毒分为HHV-6A和HHV-6B二组。HHV-6主要感染$CD4^+$ T细胞。病毒在

体外培养中对T细胞产生细胞病变。单核吞噬细胞、骨髓细胞和神经胶质细胞并不是HHV-6的易感细胞，感染病毒后不出现溶细胞性感染，但病毒DNA可在细胞内长时间存在。

HHV-6在人群中的感染十分普遍。血清流行病学研究表明在60%～90%的儿童及成人血清中查到HHV-6抗体。健康带毒者是主要的传染源，经唾液途径传播。HHV-6的原发感染多见于6月至2岁的婴儿，感染后大多数无临床症状，少数可引起幼儿丘疹或婴儿玫瑰疹。患儿常急性发病，先有3～5d高热和上呼吸道感染症状，退热后于颈部及躯干出现淡红色斑丘疹。HHV-6感染亦可引起幼儿急性发热而无皮疹的疾病，偶亦引起脑炎、重症肝炎、惊厥等合并症。

在免疫功能低下的病人，体内潜伏感染的HHV-6常可被激活而发展为持续的急性感染。例如在骨髓移植病人发生的间质性肺炎。HHV-6感染还可能引起骨髓抑制和骨髓衰竭。持续感染的HHV-6与肾移植的排斥反应有关。此外，在组织培养中，HHV-6与HIV共同感染辅助性T淋巴细胞，可以加速HIV的表达和细胞破坏。但HHV-6与HIV在人体内的共感染能否加剧HIV疾病的发展尚待证实。

进行微生物检查时，可从早期原发感染病儿采集唾液和外周血淋巴细胞标本，接种经PHA激活的人脐血或外周血淋巴细胞培养分离HHV-6病毒。亦可用原位杂交和PCR技术检测受染细胞中的病毒DNA。血清学试验常用间接免疫荧光法检查抗病毒的IgM和IgG，以确定近期感染和既往感染。

二、人疱疹病毒7型

人疱疹病毒7型（HHV-7）是1990年从一健康成人外周血的CD_4^+ T细胞经促有丝分裂剂活化后分离到的一种新型疱疹病毒。病毒DNA的分析比较表明，HHV-7与HHV-6只有有限的同源性。两型疱疹病毒对单克隆抗体的反应性亦不相同。血清流行病学调查显示，大多数健康成人血清HHV-7型抗体阳性。6～11月龄幼儿HHV-7型抗体阳性率即达33.3%，12～23月龄升至75%，2岁以上者高达92%。目前认为HHV-7主要潜伏在外周血单个核细胞和唾液腺中，从健康成人的唾液中可分离出HHV-7，因而唾液传播是此病毒的重要传播途径。除幼儿皮疹外，HHV-7与其他疾病的关系尚不清楚。

三、人疱疹病毒8型

人疱疹病毒8型（HHV-8）是最近发现的又一新型人类疱疹病毒。本病毒主要存在于卡波济（Kaposi）肉瘤组织及艾滋病患者淋巴瘤组织。在艾滋病卡波济肉瘤患者血清、血浆、外周血白细胞中也可检测到HHV-8型DNA。核苷酸序列分析表明，HHV-8型病毒一些基因与EB病毒和松鼠猴疱疹病毒基因具有部分同源性，但与HSV-1、VZV、CMV、HHV-6与HHV-7型的DNA无关。根据现有研究资料，HHV-8是一种新的病因因子参与某些肿瘤及增生性疾患的致病过程，与卡波济肉瘤的发生、血管淋巴母细胞增生性疾病及某些增生性皮肤疾患的发病有关系。

（郭辉玉）

第 33 章　逆转录病毒

逆转录病毒科（Retroviridae）是一大组含有逆转录酶（reverse transcriptase）的 RNA 病毒。按其致病作用可分为 3 个亚科：

1. RNA 肿瘤病毒亚科（Oncovirinae）　包括引起禽类、哺乳类以及灵长类动物的白血病、肉瘤、淋巴瘤和乳腺癌等多种病毒。近年发现的Ⅰ型、Ⅱ型和Ⅴ型人类嗜 T 淋巴细胞病毒（human T-cell lymphotropic virus，HTLV）亦属此亚科。

2. 慢病毒亚科（Lentivirinae）　包括人类免疫缺陷病毒（human immunodeficiency virus，HIV）及多种对动物致病的慢病毒，如马传染性贫血病毒、引起绵羊肺炎与脱鞘病的 Visna 病毒等。

3. 泡沫病毒亚科（Spumavirinae）　包括灵长类、牛、猪及人泡沫病毒。在组织培养中虽能引起泡沫样变性和细胞融合，但

表 33-1　逆转录病毒的特性

一、生物学性状

形态与结构 HIV病毒体呈球形，直径约100～120nm。电镜下病毒内部有一致密的圆锥状核心（图33-1）。病毒体外层为脂蛋白包膜，其中嵌有gp120和gp41两种病毒特异的糖蛋白。前者构成包膜表面的刺突；后者为跨膜蛋白。病毒内部为20面体对称的核衣壳，病毒核心含病毒RNA、逆转录酶和核衣壳蛋白（图33-2）。

基因组的结构与功能 HIV的基因组由2条相同的正链RNA在5'端通过氢键互相连接一起形成二聚体。病毒基因组全长约9700碱基，含有gag、pol、env3个结构基因以及tat、rev、nef、vif、vpr、vpu/vpx 6个调控基因。在病毒基因组的5'端和3'端各有相同的一段核苷酸序列，称为长末端重复序列（long terminal repeat，LTR）（图33-3）。

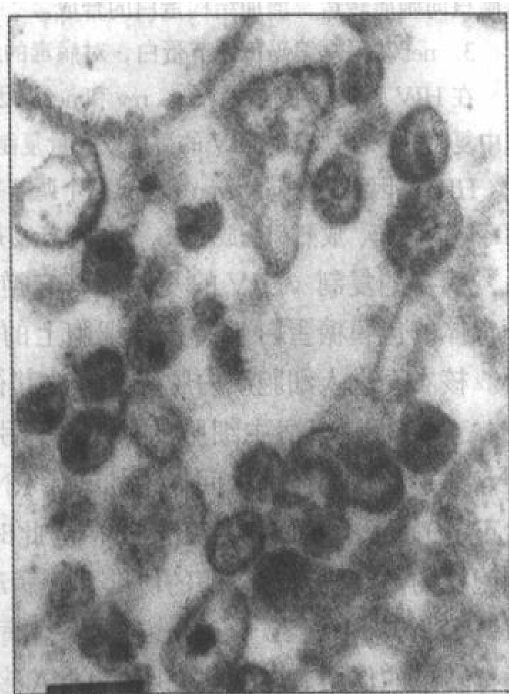


图33-1 人类免疫缺陷病毒
李德荣 提供

1. gag基因 编码一p55的蛋白前体，经蛋白酶裂解而形成病毒的核衣壳蛋白（p7），内膜蛋白（p17）和衣壳蛋白（p24）。其中的衣壳蛋白p24的特异性最高，与多数其他的逆转录病毒无抗原性关系。HIV-1与HIV-2的p24则有轻度交叉反应。

2. env基因 编码gp120和gp41两种包膜糖蛋白。在gp120的肽链上，有些区段（V_1-V_5）的氨基酸序列呈高度易变性，有些区段（C_1-C_4）的氨基酸序列则较恒定。其高变区的V_3肽段含有病毒体与中和抗体结合的位点；亦是病毒体与宿主细胞表面的CD_4分子结合的部位。gp41的疏水性氨基末端，具有介导病毒包膜与宿主胞膜融合的作用。

3. pol基因 编码逆转录酶（p66/p51）、蛋白水解酶和整合酶。逆转录酶具有多聚酶和核酸内切酶（RNase H）的功能，与病毒复制有密切关系。

4. LTR 是病毒基因组两端重复的一段核苷酸序列，含有起始子、增强子、TATA序列，以及多个与病毒及细胞调节蛋白反应的区域，它们对病毒基因组转录的调控起关键作用。

HIV基因表达的调节机制是复杂的，下列3个调节基因的功能最为重要。

1. tat基因 编码的产物是一种反式激活的转录因子，与LTR上的应答元件结合后能启动及促进病毒基因的mRNA转录。

2. rev基因 编码的产物是一种转录后的反式激活因子，其作用是促进大分子量mRNA

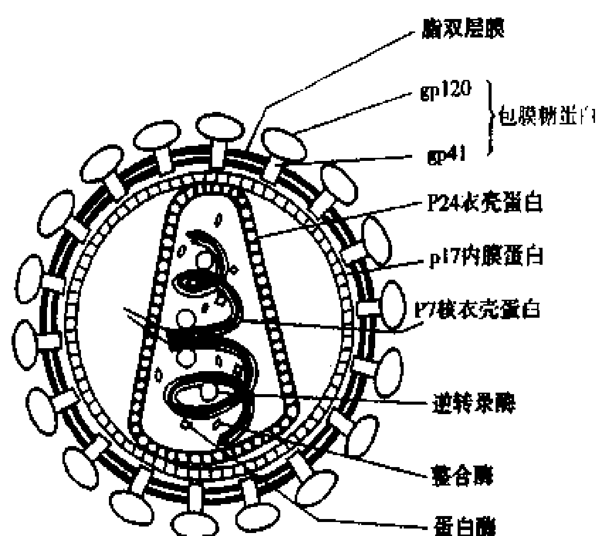


图33-2 HIV的结构模式图

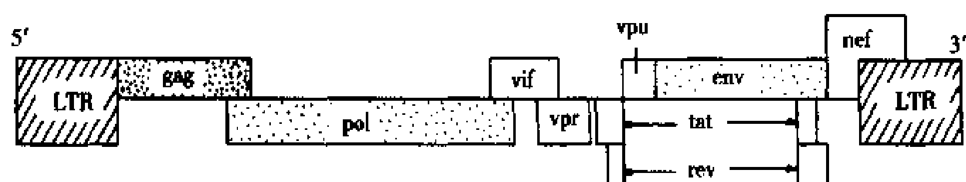


图 33-3 HIV 基因组结构

从胞核向胞质转运，增加结构蛋白的合成。

3. nef 基因 编码负调节蛋白，对病毒的结构蛋白和调节蛋白的表达均有下调作用。

在 HIV 感染的细胞中，tat、rev 和 nef 基因产物对 HIV 表达的正调节和负调节、对维持 HIV 在细胞中复制的平衡，控制 HIV 的潜伏或大量复制有重要意义。

HIV 基因组还有 vif、vpu 和 vpr 三个调节基因，vif 编码产物与病毒体的感染性有关，vpu 产物与病毒体的装配、成熟和释放有关，而 vpr 产物是一种弱转录激活因子。

病毒的复制 HIV 的复制和其它逆转录病毒一样，是一特殊而复杂的过程。HIV 病毒体的包膜糖蛋白刺突先与细胞上的特异受体结合，然后病毒包膜与细胞膜发生融合。核衣壳进入细胞质内脱壳，释放其核心 RNA 以进行复制。病毒的逆转录酶以病毒 RNA 为模板，藉宿主细胞的 tRNA 作引物，经逆向转录产生互补的负链 DNA，构成 RNA:DNA 中间体。中间体中的亲代 RNA 链由 RNA 酶 H 水解去除，再由负链 DNA 产生正链 DNA，从而组成双链 DNA。此时基因组的两端形成 LTR 序列，并由胞质移行到胞核的。在病毒整合酶的协助下，病毒基因组整合入细胞染色体中。这种整合的病毒双链 DNA 即前病毒（provirus）。当前病毒活化而进行自身转录时，LTR 有启动和增强病毒转录的作用。在宿主细胞的 RNA 多聚酶作用下，病毒 DNA 转录形成 RNA。有些 RNA 经拼接而成为病毒 mRNA；另一些 RNA 经加帽加尾则可作为病毒的子代 RNA。mRNA 在细胞核糖体上先转译成多蛋白。在病毒蛋白酶的作用下，多蛋白被裂解成各种结构蛋白和调节蛋白。病毒子代 RNA 与一些结构蛋白装配成核衣壳，并由宿主细胞膜获得包膜组成完整的有感染性的子代病毒。最后以出芽方式释放到细胞外（图 33-4）。

病毒的变异 HIV 基因组可发生变异，从而使分离到的 HIV 株间有不同的生物学特性。HIV 变异在基因组内的分布是不均匀的，较多集中于包膜糖蛋白 env 基因和调节基因 nef。基因核苷酸序列的变异导致编码氨基酸的改变。根据 env 基因序列的异同可将目前全球流行的 HIV-1 分为 A、B、C、D、E、F、H 和 O 8 个亚型。各亚型的分布因不同地区、流行时间和人群传播情况而异。据估计，HIV env 基因核苷酸变异发生的机率每年每个位点至少为 0.1%。这一变异率约与流感病毒相似。

病毒受体与细胞亲嗜性 HIV 的主要靶细胞是 $CD4^+$ 的 T 淋巴细胞和单核-巨噬细胞亚群。皮肤的 Langerhans 细胞、淋巴结的滤泡树突状细胞、脑小胶质细胞等亦能被感染。细胞表面的 $CD4^+$ 分子是 HIV 的主要受体。当 HIV 与靶细胞接触时，病毒体的包膜糖蛋白 gp120 与 $CD4^+$ 分子的 V_1 区结合，引起 gp41 分子构型的改变，其疏水性 N 末端伸入靶细胞胞膜内，导致病毒包膜与细胞膜发生融合。最近证明，除 $CD4^+$ 外，

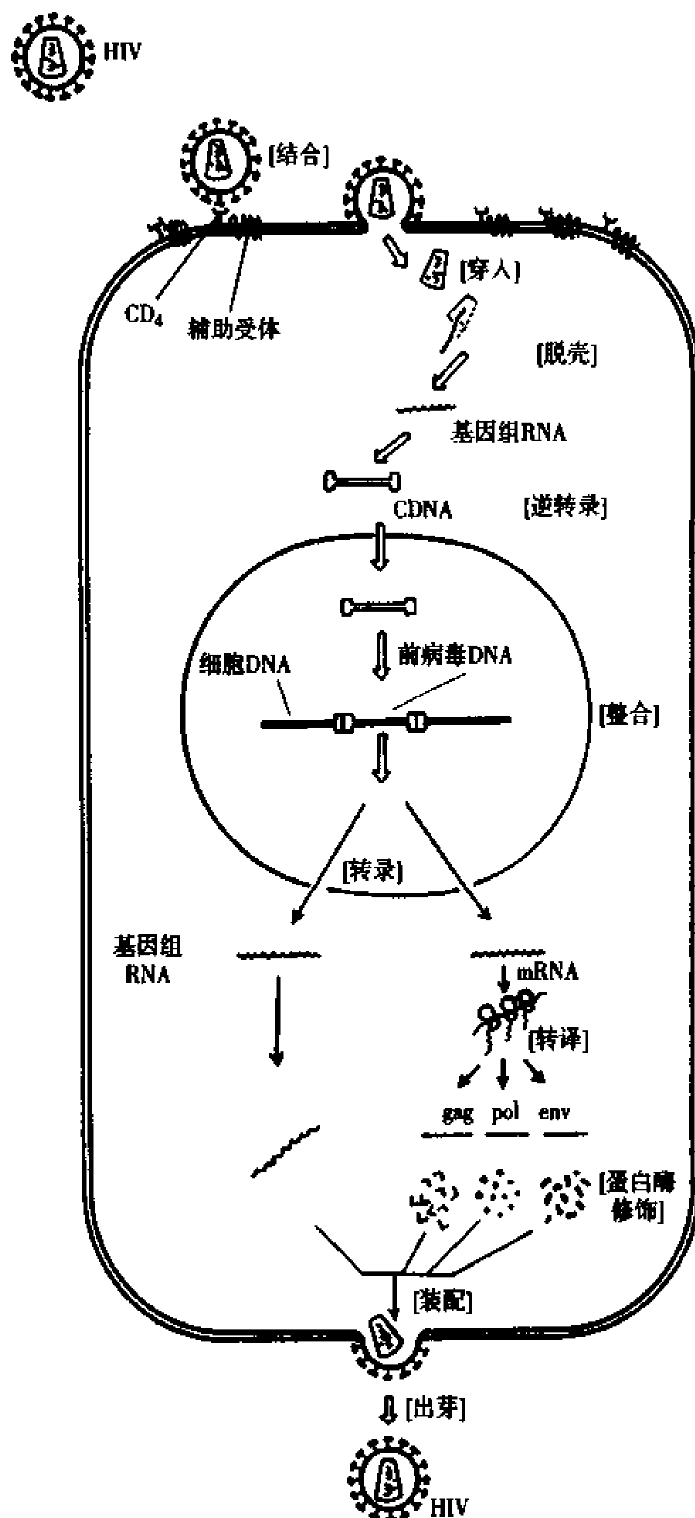


图 33-4　HIV 的复制周期

HIV 尚需一些辅助受体才能使病毒包膜与细胞膜产生有效的融合作用。现已发现辅助受体分二种：CXCR4 是 HIV 的亲 T 细胞病毒株的辅助受体；CCR5 是 HIV 的亲巨噬细胞病毒株的辅助受体。HIV 包膜 gp120 肽链的某些区段（特别是 V_3 环）决定病毒的细

胞亲嗜性。V_3 环基因的变异可以改变 HIV 的细胞亲嗜性。一般在艾滋病患病的早期，血液中的亲巨噬细胞病毒株占优势。随着疾病的发展，亲 T 细胞病毒株逐渐增多，在过渡期间可出现双亲嗜性的病毒株，最后以亲 T 细胞的病毒株为主。其结果是大量 $CD4^+$ T 细胞受病毒感染而破坏。

培养特性 在体外，HIV 只感染 $CD4^+$ 的 T 细胞和巨噬细胞。实验室中常用新鲜分离的正常人 T 细胞或用病人自身分离的 T 细胞培养。HIV 亦可在某些 T 细胞株（如 H9、CEM）中增殖、感染后细胞出现不同程度的病变，培养液中可测到逆转录酶活性，而培养细胞中可查到病毒的抗原。

恒河猴及黑猩猩可作为 HIV 感染的动物模型，但其感染过程与产生的症状与人类不同。

抵抗力 HIV 对理化因素的抵抗力较弱。56℃ 加热 30min 可被灭活。但病毒在室温（20℃～22℃）可保存活力达 7d。0.2%次氯酸钠、0.1%漂白粉、70%乙醇、50%乙醚、0.3%H_2O_2 或 0.5%来苏处理 5min，对病毒均有灭活作用。

二、致病性与免疫性

传染源与传播途径 艾滋病的传染源是 HIV 无症状携带者和艾滋病患者。从其血液、精液、阴道分泌物、乳汁、唾液、脑脊髓液、骨髓、皮肤及中枢神经组织等标本中，均可分离到病毒。主要传播方式有三种：①通过同性或异性间的性行为；②输入带 HIV 的血液或血制品、器官或骨髓移植、人工授精、静脉药瘾者共用污染的注射器及针头；③母婴传播，包括经胎盘、产道或经哺乳等方式引起的传播。

原发感染、慢性感染和激发 HIV 初次感染人体后，即开始在 $CD4^+$ 的 T 细胞和单核-巨噬细胞群中大量增殖和扩散。此时感染者血循环中的 $CD4^+$ T 细胞数减少和 HIV 病毒量增多。感染者可出现发热、咽炎、淋巴结肿大、皮肤斑丘疹和粘膜溃疡等自限性症状。此即为 HIV 的原发感染期。经数周后转入较长时间的慢性感染期（3～5 年或更长），在此期间感染者可不表现临床症状而处于临床潜伏期，外周血中 HIV 病毒血症或每 ml 病毒 RNA 拷贝数很低，常需用敏感的方法才能检测出来。但实际上体内淋巴样组织中的 HIV 仍然处于活跃增殖的状态。病毒在受染的 $CD4^+$ T 细胞和巨噬细胞中继续增殖，形成慢性或持续性感染，并不断小量释放入血循环中，随着感染时间的延长，当机体受到各种因素的激发使慢性感染的病毒大量增加，$CD4^+$ T 细胞数不断减少，免疫系统的损害加重，慢性感染可迅速发展为艾滋病相关综合征，合并各种机会感染，最后发展成为艾滋病。

HIV 引起的慢性感染与病毒能逃脱宿主免疫系统的清除作用有关。例如：①病毒包膜糖蛋白一些区段的高度变异性，导致不断出现新抗原而逃避免疫系统的识别；②在原发感染的病毒血症期间，对清除病毒感染细胞最有效的 $CD8^+$ 杀伤性 T 细胞克隆经初始扩增后因过量暴露于 HIV 抗原而消失，使淋巴样组织中病毒潜伏感染的细胞逃脱免疫清除作用。

关于引起 HIV 基因组活化，使病毒由慢性感染状态转为大量增殖的因素尚未完全

清楚。已知 HIV 基因中的 LTR 序列及 tat、rev 和 nef 三个调节基因，在启动、加速或减缓病毒的 mRNA 转录中起关键作用。一些细胞因子、T 细胞有丝分裂原及其他病毒（如 HHV-6）的调节蛋白等因素与病毒 LTR 上的 NF-kβ 等元件结合后，可以增强 HIV 在细胞中大量复制，进一步导致 $CD4^+$ T 细胞数的大量减少和血循环中的 HIV 载量大量增加，最终造成免疫系统的完全破坏。

HIV 感染所致免疫损害 HIV 感染和致病的主要特点是该病毒侵入人体后，能选择地侵犯表达 $CD4^+$ 分子的细胞，主要是辅助性 T 细胞（$CD4^+$），从而引起以 $CD4^+$ 细胞缺损和功能障碍为中心的严重免疫缺陷。病人主要表现为细胞免疫功能明显低下，淋巴细胞减少，因 $CD4^+$ T 细胞减少与 $CD8^+$ T 细胞相对增多而 $CD4^+/CD8^+$ 比例倒置。迟发型超敏反应减弱或消失。T 细胞对有丝分裂原、特异性抗原和同种异体抗原的细胞增生反应低下；由 T 细胞或由 NK 细胞引起的细胞毒性反应降低。病程早期，由于 B 淋巴细胞的多克隆性激活，血清免疫球蛋白的水平往往增高；但随着疾病的进展，对抗原的抗体应答能力下降，显示 B 细胞的功能亦受到影响。

除 $CD4^+$ 细胞外，单核-巨噬细胞系统的细胞亦表达有少量 $CD4^+$ 受体而被 HIV 感染。病毒在细胞中呈低度增殖而不引起病变，但可损害细胞的免疫或其他功能。这些细胞可将病毒播散到全身，侵犯中枢神经系统、肺、肠及其他器官而致病。

HIV 损伤 $CD4^+$ 细胞的机制 HIV 感染损伤 $CD4^+$ 细胞的机制比较复杂。以下几种机制可能参与作用：

1. 病毒增殖后期，由于包膜糖蛋白插入细胞膜或病毒从胞膜出芽释放，导致胞膜通透性增加而损伤细胞。

2. 病毒增殖时产生大量未整合的病毒 DNA，对细胞的正常生物合成活性有干扰作用。

3. 胞膜上有病毒糖蛋白表达的 $CD4^+$ 细胞可与周围未受病毒感染的 $CD4^+$ 细胞融合，形成多核巨细胞而导致细胞死亡。

4. 受染细胞胞膜上表达的 HIV 糖蛋白抗原，能被特异性细胞毒性 T 细胞所识别，或与特异性抗体结合后，通过抗体依赖细胞介导的细胞毒作用而破坏细胞。

5. 病毒诱导自身免疫使 T 淋巴细胞损伤或功能障碍。HIV 的 gp120 与细胞膜上的 MHCⅡ类分子有一同源区，故抗 gp120 的抗体能与这类 T 细胞起交叉反应，造成免疫病理损害。

此外，有学者提出 HIV 感染后通过对 $CD4^+$ 细胞的信号激活而导致细胞凋亡，可能亦是 $CD4^+$ 细胞损伤机制之一。

合并各种机会感染与肿瘤 在机体免疫功能严重缺损情况下，艾滋病患者的抗感染能力显著下降，一些对正常机体无明显致病作用的病毒（如巨细胞病毒）、细菌（如鸟型结核菌）、真菌（如白假丝酵母菌）和原虫（如卡氏肺孢菌），常可造成艾滋病患者的致死性感染。部份病人还可并发 Kaposi 肉瘤和恶性淋巴瘤。

HIV 感染的免疫应答 在 HIV 感染过程中，机体可产生高滴度的抗 HIV 多种蛋白的抗体，包括抗 gp120 的中和抗体。这些抗体具有一定的保护作用，主要是在急性感染

期降低血清中的病毒抗原量，但不能清除体内的病毒。HIV 感染也刺激机体产生细胞免疫应答，包括抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用（ADCC）、细胞毒性 T 细胞（CTL）和 NK 细胞反应等。特异性细胞免疫应答，特别是 CTL 对杀伤 HIV 感染的细胞和阻止病毒经细胞接触而扩散有重要作用，但 CTL 亦不能彻底清除体内潜伏感染的细胞。因此，尽管机体产生对 HIV 的细胞和体液免疫应答，HIV 仍能持续地在体内活跃复制，构成长时期的慢性感染状态。

三、微生物学检查法

HIV 感染的实验室诊断方法有两大类：一类是测定抗体，是目前最常应用的方法；另一类是测定病毒及其组分。

检测抗体　主要的方法有 ELISA、IFA、RIA、免疫印迹试验。

ELISA 和 RIA 是用去垢剂裂解的 HIV 或 HIV 感染细胞的抽提物作抗原；IFA 是用感染细胞涂片作抗原，进行检测抗体。这三种方法的敏感性虽高，但由于 HIV 的全病

多国家都已采取预防 HIV 感染的综合措施，包括：①开展广泛宣传教育，普及预防知识、认识艾滋病的传染方式及其严重危害性，杜绝吸毒和性滥交；②建立 HIV 感染的监测系统，掌握流行动态；③加强国境检疫，严防传入；④对供血者进行 HIV 抗体检查，确保输血和血液制品的安全性。

疫苗研究 迄今，对艾滋病的特异性预防尚缺乏理想的疫苗。由于难以保证疫苗的安全性，HIV 的减毒活疫苗、灭活疫苗均不宜给人体应用。目前研究得最多的是：

1. 基因工程亚单位疫苗 HIV 的包膜糖蛋白 gp160、gp120 和 gp41 已在细菌、酵母和真核细胞系统表达成功，免疫人和动物后可诱生特异性中和抗体和激发特异性 T 细胞免疫应答，在黑猩猩实验中已证明有保护作用。

2. 合成寡肽疫苗 根据 gp120 分子中的主要中和决定簇与 CD4 受体结合区和部分 T 细胞决定簇的氨基酸序列，合成各种 HIV 的寡肽疫苗。在实验中已证明 V_3 肽可以刺激动物和人产生抗 HIV 的中和抗体和细胞毒 T 细胞反应。

3. 重组病毒载体活疫苗 用痘苗病毒、腺病毒和脊髓灰质炎病毒疫苗株作载体，将 HIV 基因插入构建成重组病毒载体活疫苗。动物试验已证明能产生特异性细胞免疫和中和抗体。用表达 HIVgp160、gp120 蛋白的重组痘苗病毒接种志愿者后，可以产生较强的 T 细胞免疫应答，但体液免疫应答相对较弱。

HIV 疫苗研究遇到最大的问题是病毒包膜糖蛋白的高度易变性。不同亚型 HIV 毒株的 P120 存在明显的差异，因此要得到具有广泛保护性的疫苗有困难。最近有人进行更接近病毒本身的复杂疫苗的研究，例如病毒样颗粒（VLP）疫苗。亦有试用 DNA 疫苗以图诱导病毒特异的 $CD8^+$ 细胞毒性 T 细胞反应。这两种疫苗的免疫效果正在观察中。

抗病毒治疗 目前，临床上用于治疗艾滋病的药物分为三类：①核苷类逆转录酶抑制剂：如叠氮胸苷（AZT）、双脱氧胸苷（ddC）、双脱氧肌苷（ddI）和拉米夫定(3TC)；②非核苷类逆转录酶抑制剂：如 delavirdine 和 nevirapine；③蛋白酶抑制剂：如 saquinavir、ritonavir、indinavir 和 nelfinavir。①和②的作用是干扰 HIV 的 DNA 合成，③的作用是抑制 HIV 蛋白水解酶，使病毒的大分子聚合蛋白不被裂解而影响病毒的成熟与装配。最近采用核苷类和（或）非核苷类逆转录酶抑制剂与蛋白酶抑制剂组合成二联或三联疗法，针对 HIV 复制周期的两个关键环节抑制病毒的增殖。联合疗法的优点是能迅速降低病人血浆中 HIV-RNA 载量至极低水平，推迟 HIV 病情的发展，并延长病人的寿命，但这种联合抗逆转录病毒治疗能否将病人体内持续感染的 HIV 彻底清除，尚有待进一步研究。

第二节 人类嗜 T 细胞病毒Ⅰ型、Ⅱ型

人类嗜 T 细胞病毒Ⅰ型（HTLV-Ⅰ）和Ⅱ型（HTLV-Ⅱ）是 80 年代初期分别从 T 淋巴细胞白血病和毛细胞白血病患者的外周血淋巴细胞培养分离出的人类逆转录病毒，分类上属于 RNA 肿瘤病毒亚科。

一、生物学特性

HTLV-Ⅰ和HTLV-Ⅱ在电镜下呈圆形，大小约100nm。病毒包膜表面的刺突嵌有病毒特异的糖蛋白（gp120），能与细胞表面的CD4受体结合，与病毒的感染、侵入细胞有关。内层衣壳含P18、P24两种结构蛋白。中心含病毒RNA及逆转录酶。

病毒基因组的5′端至3′端由依次排列的gag、pol、env3个结构基因和tax、rex2个调节基因组成。其两端均为LTR，参与病毒基因的调控。gag、pol和env3个基因的功能与HIV基本一致。tax基因编码蛋白是一种反式激活因子，除有激活LTR、增加病毒基因的转录外，尚能激活细胞的IL-2基因和IL-2受体基因，使它们异常表达而促进细胞大量增长。rex基因编码的两种蛋白对病毒的结构蛋白和调节蛋白的表达有调节作用。

HTLV-Ⅰ与HTLV-Ⅱ基因组的同源性几近50%。

二、致　病　性

HTLV-Ⅰ和HTLV-Ⅱ仅感染$CD4^+$ T淋巴细胞并在其中生长，使受染的T细胞转化，最后发展成为T淋巴细胞白血病。

关于HTLV-Ⅰ和HTLV-Ⅱ以何种方式引起细胞恶变的机制还未完全清楚。这两种病毒与Rous鸡肉瘤病毒等急性RNA肿瘤病毒不同，它们的基因组均不含有已知的V-onc或C-onc。两种病毒与禽类白血病毒或鼠白血病毒等亚急性或慢性RNA肿瘤病毒不同，病毒基因组插入细胞基因组后，并不能激活与其相邻近的C-onc。目前认为，两种病毒所致的T淋巴细胞白血病，可能是一个多阶段的演变过程。病毒侵入$CD4^+$ T淋巴细胞后，其基因组经逆向转录并以前病毒形式整合于细胞DNA中。在病毒复制过程中，通过tax基因产物的反式激活作用，$CD4^+$ T细胞的IL-2基因与IL-2受体基因即异常表达，使感染病毒的$CD4^+$ T细胞大量增长，但并不引起细胞破坏。由于HTLV前病毒DNA在T细胞染色体上的整合并无特定细胞基因的限制，它们可以整合于不同的细胞染色体上，并使细胞转化成不同的克隆。当这些细胞继续增殖时，某一克隆中个别细胞的染色体如果发生突变，这个细胞就会演变成白血病细胞，随后由其不断增殖成T细胞白血病的细胞克隆。从HTLV感染$CD4^+$ T细胞到形成白血病细胞克隆，一般约需3～6周时间。

受HTLV感染的T淋巴细胞除引起细胞增生、转化及癌变外，其正常免疫功能亦受影响，主要引起免疫缺陷和多克隆性B细胞激活。

由HTLV-Ⅰ引起的成人T细胞白血病在日本西南部、加勒比海地区、南美洲东北部和非洲一些地区呈地方性流行。最近我国亦发现福建省的沿海县市有少数成人T细胞白血病病例。当地人群血清HTLV-Ⅰ抗体阳性率约为2%，表明福建省东部沿海县市是我国HTLV-Ⅰ的流行区。

HTLV-Ⅰ可通过输血、共用注射器或性交等方式传播，亦可经胎盘、产道或哺乳等途径将病毒传给婴儿。该病毒除引起成人T细胞白血病外，尚能引起热带下肢痉挛性瘫痪和B细胞淋巴瘤。HTLV-Ⅱ则引起毛细胞白血病和慢性$CD4^+$细胞淋巴瘤。

三、诊断与防治

检查 HTLV-Ⅰ或 HTLV-Ⅱ感染所用的病毒分离和抗体测定方法与检查 HIV 相似。应用免疫印迹法检测抗体可将 HTLV-Ⅰ、HTLV-Ⅱ和 HIV 三种病毒的抗体相区别。

目前尚没有研制出有效的抗 HTLV 疫苗。抗病毒药中，只有 AZT 有一定的治疗效果。

（郭辉玉）

第34章 其他病毒

第一节 狂犬病病毒

狂犬病病毒（rabies virus）是弹状病毒科（Rhabdoviridae）、狂犬病毒属（Lyssavirus）的一种嗜神经性病毒。病毒主要在野生动物（如狼、狐狸、臭鼬、浣熊、蝙蝠等）及家畜（如犬、猫等）中传播。人主要是被病兽或带毒动物咬伤而受感染。

一、生物学特性

病毒外形似子弹状，大小约 75×180nm。中心为螺旋形对称的核衣壳，由单负链 RNA 和核蛋白、多聚酶蛋白和基质蛋白组成。外面是脂蛋白包膜，其表面有许多糖蛋白刺突，与病毒的感染性和毒力相关。

病毒的动物感染范围较广。在易感动物或人的中枢神经细胞（主要是大脑海马回的锥体细胞）中增殖时，在胞质内形成嗜酸性包涵体，称内基小体（Negri body）（图 34-1），在诊断上很有价值。



图 34-1 狂犬病病毒内基小体

×2000

过去认为，狂犬病病毒只有一个血清型，从世界各地分离的病毒株抗原性均无差异。但近年发现，从不同动物分离的病毒株在细胞培养中的生长特点，对实验动物毒力的强弱，以及病毒包膜的 G 蛋白抗原结构均存在明显差异。因此，不同的狂犬病病毒株存在异质性是可能的。

二、致病性与免疫性

人患狂犬病主要是被患病动物咬伤所致，但亦可因破损皮肤粘膜接触含病毒材料而致感染。在动物发病前5天，在唾液中可含有病毒。人被其咬伤后，病毒通过伤口进入体内。潜伏期一般为1～3个月，但亦有短至1周或长达数年才出现症状者，其长短取决于被咬伤部位与头部的远近及伤口内感染的病毒量。进入体内的病毒在肌纤维细胞中增殖，由神经末梢沿神经轴索上行至中枢神经系统，在神经细胞内增殖并引起中枢神经系统损伤，然后又沿传出神经扩散至唾液腺和其他组织，包括泪腺、视网膜、角膜、鼻粘膜、舌味蕾、皮脂腺、毛囊、心肌、骨骼肌、肺、肝和肾上腺等。人发病时的典型临床表现是神经兴奋性增高，吞咽或饮水时喉头肌肉发生痉挛，甚至闻水声或其他轻微刺激均可引起痉挛发作，故又称恐水病（hydrophobia)。这种兴奋期典型症状经3～5d后，病人转入麻痹期，最后因昏迷、呼吸及循环衰竭而死亡。病死率几乎达100%。

动物研究表明，机体感染狂犬病病毒后能产生细胞免疫和中和抗体。病毒包膜的糖蛋白（G）和核衣壳的核蛋白（N）均含有保护性抗原和T细胞免疫表位，可诱导产生中和抗体和$CD4^+$辅助性T细胞和$CD8^+$细胞毒性T细胞。它们在狂犬病疫苗接种后诱生的抗狂犬病病毒感染性免疫机制中起重要作用。

三、微生物学检查法

人被犬或其他动物咬伤后，检查动物是否患有狂犬病，对采取防治措施极为重要。一般不宜将动物立即杀死，应将其捕获隔离观察。若经7～10d不发病，一般可认为该动物不是狂犬病或咬人时唾液中尚无狂犬病病毒。若观察期间发病，即将其杀死，取脑海马回部位组织涂片，用免疫荧光抗体法检查病毒抗原，同时作组织切片检查内基小体。

对狂犬病患者的生前诊断可取唾液沉渣涂片、睑及颊皮肤活检，用免疫荧光抗体法检查病毒抗原，但一般阳性率不高。最近应用逆转录PCR法检测标本中的狂犬病病毒RNA，此法敏感、快速和特异，值得在有条件的实验室推广应用。

四、防 治 原 则

捕杀野犬，加强家犬管理，注射犬用疫苗，是预防狂犬病的主要措施。人被动物咬伤后，应采取下列预防措施：

伤口处理　立即用20%肥皂水、0.1%新洁尔灭或清水反复冲洗伤口，再用70%乙醇及碘酒涂擦。

被动免疫　用高效价抗狂犬病病毒血清于伤口周围与底部行浸润注射及肌注，剂量为40IU/kg。如与狂犬病疫苗联用效果更佳。

疫苗接种　狂犬病的潜伏期一般较长，人被咬伤后如及早接种疫苗，可以预防发病。一些有接触病毒危险的人员，如兽医、动物管理员和野外工作者等，亦应用疫苗预防感染。我国目前用地鼠肾原代细胞或二倍体细胞培养制备的灭活病毒疫苗，于第1、

3、7、14、28d各肌注1ml，免疫效果好，副作用少。近年国内外研究以痘苗病毒或腺病毒为载体，构建能表达狂犬病病毒G蛋白的基因重组疫苗，已开始分别在志愿者人体及动物中试用。它们的免疫效果及安全性尚在观察中。

第二节 人乳头瘤病毒

乳头瘤病毒属于乳多空病毒科（Papovaviridae）的乳头瘤病毒属，它包括多种动物乳头瘤病毒和人乳头瘤病毒（human papillomavirus，HPV）。

一、生物学特性

HPV呈球形，直径为52～55nm，20面立体对称，无包膜。病毒衣壳由72个壳微粒组成（图34-2）。病毒基因组为双链环状DNA，以共价闭合的超螺旋结构、开放的环状结构，线性分子3种形式存在。HPV基因组含有7个早期开放读框和2个晚期开放读框。早期区编码与病毒复制、转录调控和细胞转化有关的蛋白（E_5、E_6、E_7），晚期区编码的结构蛋白L_1和L_2是衣壳的主要和次要蛋白。

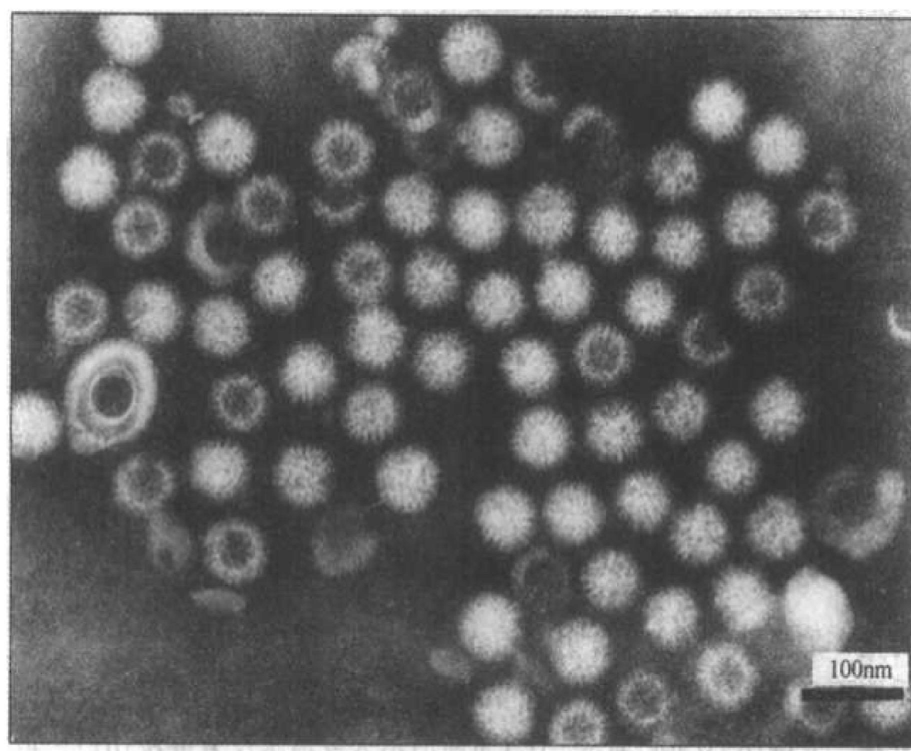


图34-2 人乳头瘤病毒

病人乳头瘤组织分离，球形颗粒表面有清楚的子粒

应用基因克隆和分子杂交方法，现已发现HPV有60多个型，各型之间的同源性少于50%。凡同源性大于50%，但限制性内切酶片段不同的称为亚型。

HPV对皮肤和粘膜上皮细胞有高度亲嗜性。病毒在这些细胞中复制依赖于细胞的

分化阶段，这可能是由于病毒复制周期某些阶段需依赖上皮细胞特殊阶段的细胞因子。增殖的病毒只能在感染皮肤上层的细胞核中检测到，在基底层细胞只有很少拷贝的病毒核酸。病毒DNA合成主要发生在棘层和颗粒层，衣壳抗原表达局限在上皮细胞的最上层。病毒复制能诱导上皮增殖，表皮变厚，伴有棘层增生和某些程度表皮角化，在颗粒层常出现嗜碱性核内包涵体。上皮增殖形成乳头状瘤，也称为疣。

二、致病性与免疫性

HPV的传播主要通过直接接触感染者的病损部位或间接接触被病毒污染的物品。生殖器感染主要由性交传播。新生儿可在通过产道时受感染。病毒感染仅停留于局部皮肤和粘膜中，不产生病毒血症。

不同型的HPV侵犯的部位和所致疾病也不尽相同（表34-1）。例如尖锐湿疣主要由HPV-6、11型引起，也可以由1、2等型所致，HPV-1、2、4型是跖疣和寻常疣的病因；HPV-3、10型引起扁平疣等。

表34-1　HPV型别与人类疾病的关系

HPV型别	相关疾病
1、4	跖疣
1、2、4	寻常疣
3、10	扁平疣
7	屠夫寻常疣
5、8、9、12、14、15、17、19～25、36	疣状表皮增生异常
6、11	喉乳头瘤、口腔乳头瘤
6、11	尖锐湿疣
16、18、31、33	宫颈上皮内瘤与宫颈癌

近年研究表明，HPV-16、18、31和33等型别可引起宫颈内瘤样变，组织学变化可由宫颈上皮的不典型增生至原位癌，严重者可发展为浸润癌。

HPV在细胞中存在的方式与其诱导细胞恶变能力密切相关。在HPV相关良性病变中，病毒DNA多以游离状态存在；而在大多数的宫颈癌组织中的病毒以整合状态存在。由HPV基因组编码的产物中，E_6和E_7蛋白具有癌基因的功能，其作用机制是E_6和E_7可以分别和细胞中的P53蛋白和Rb基因产物$P110^{Rb}$蛋白相结合，干扰了这两种抑癌基因产物抑制细胞分裂和增长的功能，使细胞从正常向恶性转变。

有关HPV免疫应答的研究较少。HPV感染后，可以产生特异性抗体，但该抗体没有保护作用。非特异性细胞免疫异常者，如免疫抑制、免疫缺陷及皮肤超敏反应低下者，青年扁平疣的患病率高。

三、微生物学检查法

近来，用免疫组化方法检测病变组织中的HPV抗原，用核酸杂交法和PCR法检测HPV的DNA序列，已被广泛用于疣的确诊和HPV致病关系的研究。但HPV的血清学检查尚未普遍开展，现正研究试用基因工程表达的HPV晚期蛋白检查病人血清中抗体。

第三节　人类细小病毒B_{19}

人类细小病毒B_{19}分类上属于细小病毒科（Parvoviridae）的细小病毒属（Parvovirus）。病毒球形，无包膜，直径20～26nm。核衣壳为20面体对称，内含单正链DNA。B_{19}细小病毒的靶细胞是骨髓中分裂旺盛的红细胞系前体细胞。病毒通过对这些细胞的直接杀伤作用和随后引起的免疫应答而致病。

B_{19}病毒可引起儿童的传染性红斑（erythema infectiosum）。病毒经飞沫侵入上呼吸道在局部增殖后，经血循环扩散至骨髓。病毒在骨髓中的红系前体细胞中增殖，产生溶细胞感染而导致红细胞生成障碍。大量病毒侵入血流形成病毒血症，此时病人出现流感样症状，病毒随病人的呼吸道分泌物排出体外。约经1周后随着免疫抗体生成，病毒血症终止，但病毒与抗体在血循环中形成的免疫复合物可引起面颊及四肢皮肤的红斑性斑丘疹。成人感染可致多发性关节炎。慢性溶血性贫血病人发生B_{19}病毒感染后，因红系前体细胞大量破坏和网状细胞减少而促发严重的再生障碍性贫血危象。血清抗体阴性的孕妇发生B_{19}病毒感染后，病毒可通过胎盘侵袭胎儿，引致严重贫血及流产。但尚未有证据表明B_{19}病毒可引起先天性畸形。

目前尚无有效的抗B_{19}药物，亦无预防疫苗。

（郭辉玉）

第35章 朊　粒

朊粒（prion）又称传染性蛋白粒子，是医学生物学领域中至今尚未彻底弄清的一种蛋白质传染因子。其最主要成份是一种蛋白酶抗性蛋白（PrP），至今未能查到任何核酸，对各种理化作用的抵抗力强。它具有传染性，潜伏期较长，在人和动物中引起以海绵状脑病（TSE）为特征的致死性中枢神经系统的慢性退化性疾患。1997 年美国 Prusiner 因发现 PrP 与 TSE 高度相关，首先提出用 protinaceous infectious particle 的字头 prion 作为 TSE 的病原，并对 PrP 的生物化学、分子生物学、免疫组化和转基因动物试验进行了大量研究而获得诺贝尔奖。

一、生物学特性

TSE 致病因子在不同时期有过不同的命名。因其可滤过性和增殖非常缓慢而称为慢发病毒（slow virus）；因其与已知病毒的特征明显不同而称为非寻常病毒（unconventional virus）。prion 不具有病毒体结构和未检出基因组核酸，对福马林、蛋白酶、加热（80℃）、电离辐射和紫外线的抵抗力强。从感染动物脑组织分离和纯化的 prion 是由蛋白酶 K 抗性蛋白组成的多聚体，分子量为（27～30）$\times 10^3$，故称为 PrP27～30，属于疏水性糖蛋白。从羊瘙痒因子感染地鼠脑组织分离的 PrP 称为 PrP^{SC}（scrapie prion protein）。正常人及动物脑组织基因亦编码一种与 PrP^{SC}相似的正常 PrP 称为 PrP^{C}（cellular prion protein）。PrP^{C} 与 PrP^{SC}的氨基酸序列相似，但二者的分子构型不同。PrP^{C} 肽链的三维结构具有 4 个 α-螺旋，没有 β-折叠；而 PrP^{SC}肽链的 2 个 α-螺旋转换为 4 个 β-折叠（图 35-1）。前者对蛋白酶 K 敏感而后者对蛋白酶 K 具抗性。在感染的动物脑组织中，PrP 两种异构体均存在，而正常动物组织中仅有 PrP^{C}。PrP^{C}通常情况下是无害的。当 PrP^{C}转变成 PrP^{SC}时，即具有致病性和传染性。

关于 PrP^{SC}在感染的细胞中如何增殖的机制尚未清楚。有人提出 PrP^{SC}先与细胞表面的 PrP^{C}结合，触发 PrP^{C}使之转变为更多的 PrP^{SC}。大量 PrP^{SC}从细胞释放后在脑组织中聚合组成特殊的淀粉样斑块，进一步发展为海绵状脑病。

二、致病性与免疫性

现在已知人和动物的传染性蛋白粒子病或 prion 病计有：

1. 震颤病或库鲁（Kuru）病。
2. 克-雅病（Creutzfeld-Jakob disease，CJD）及克-雅病变种（Variant CJD）。
3. Gerstmann-Straussler 综合征。

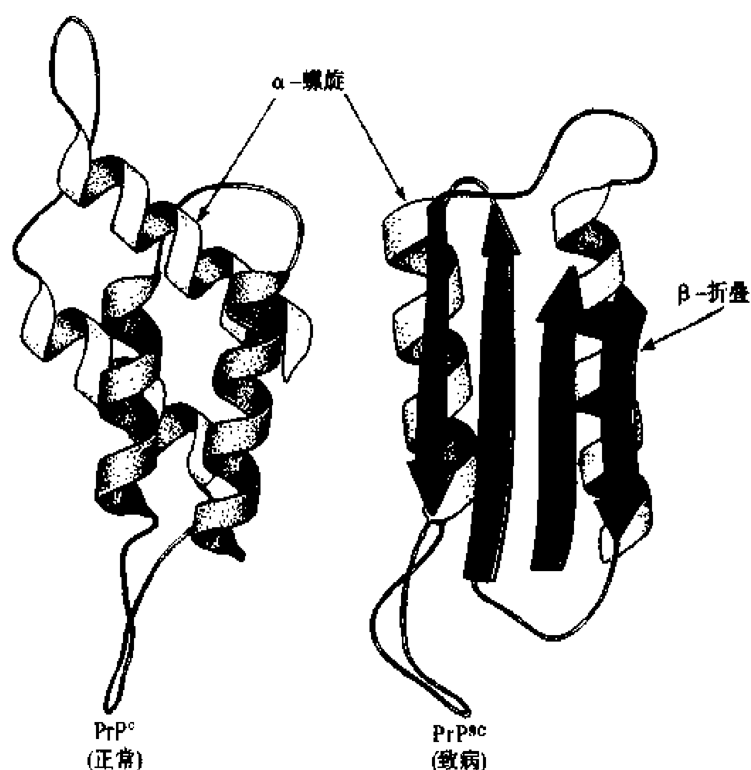


图 35-1 羊瘙痒病 PrP^C 与 PrP^{SC}的三维结构

4. 致死性家族失眠症。
5. 羊瘙痒病（scrapie of sheep and goat）
6. 牛海绵脑病（bovine spongiform encephalopathy），俗称疯牛病。
7. 传染性雪貂白质脑病（transmissible mink encephalopathy）。
8. 大耳鹿慢性消耗病（chronic wasting disease of mule deer）。

prion 病的共同特征是：潜伏期长，引起致死性中枢神经系统的慢性退化性疾患。病理学特点是大脑皮质的神经元退化，空泡变性，形成淀粉样斑块、死亡、消失，星状细胞增生，成为海绵状脑病或白质脑病。病变部位无炎症反应，患者对传染性蛋白粒子亦不产生免疫应答。临床上相应出现痴呆、共济失调、震颤等症状。

三、诊断与防治

实验室可采用特异性抗体作免疫印迹法或免疫组化法检查蛋白酶抗性的 PrP。试验时需用新鲜采取或低温冻存的非固定脑组织材料。

CJD 或库鲁病均无治疗方法。由于 prion 对理化因子的抵抗力强，高压灭菌时需用 134℃处理 1h 化学消毒时需用 5%次氯酸钠或 1mol/L 的氢氧化钠浸泡手术器械 1h，以彻底灭活 prion 因子。

（郭辉玉）

主要参考文献

1. 陆德源. 医学微生物学. 第四版. 北京：人民卫生出版社，1996
2. 闻玉梅. 现代医学微生物学. 上海：上海医科大学出版社，1999
3. 余传霖，叶天星、陆德源，等. 现代医学免疫学. 上海：上海医科大学出版社，1998
4. 翁心华，潘孝彰，王岱明. 现代感染病学. 上海：上海医科大学出版社，1998
5. 焦炳华，谢正暘. 现代微生物毒素学. 福州：福建科学技术出版社，2000
6. 俞树荣，陈香芯. 立克次体与立克次体病. 北京：军事医学科学出版社，1999
7. Collier L, Balows A, Sussman M. Topley & Wilson's microbiology and microbial infections, 9th ed. Vol 1~6. London: Arnold, 1998
8. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, et al. Medical microbiology, 3rd ed. st Louis: Mosby, 1998
9. Brook GF, Brutel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology, 21st ed. Connecticut: Lange, 1998
10. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, et al. Bergey's manual of determinative bacteriology, 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994
11. Janeway CA, Travers P, Walport N, et al. Immunobiology. The immune system in health and disease, 4th ed. London: Churchill Livingstone, 1999
12. Delves PJ, Roitt IM. Encyclopedia of immunology, 2nd ed. Vol 1~4. San Diego: Acad Press, 1998
13. Alcamo IE. Fundamentals of microbiology, 5th ed. California: Addison, 1997
14. Talaro KP, Talaro A. Fundations in microbiology, 3rd ed. Boston: McGraw Hill, 1999
15. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. Microbiology, 4th ed. Boston: McGraw Hill, 1999
16. Goldman L, Bennett JC. Cecil textbook of medicine, 21st ed. Philadelphia: WB Saunders, 2000
17. Feigin RD, Cherry JD. Textbook of pediatric infectious diseases, 4th ed. Vol 1~2. Philadelphia: WB Saunders, 1998
18. Reischl U. Molecular diagnosis of infectious diseases. Totowa: Humana Press, 1998
19. Krause RM. Emerging infections. San Diego: Academic Press, 1998
20. Zuckerman AJ, Thomas HC. Viral hepatitis, 2nd ed. London: Churchill Livingstone, 1998

中文索引

六　画

七　画

八　画

九　画

十 画

十 一 画

十二画

十三画

十 四 画

十 五 画

十 六 画

十七画以上

外文字母